

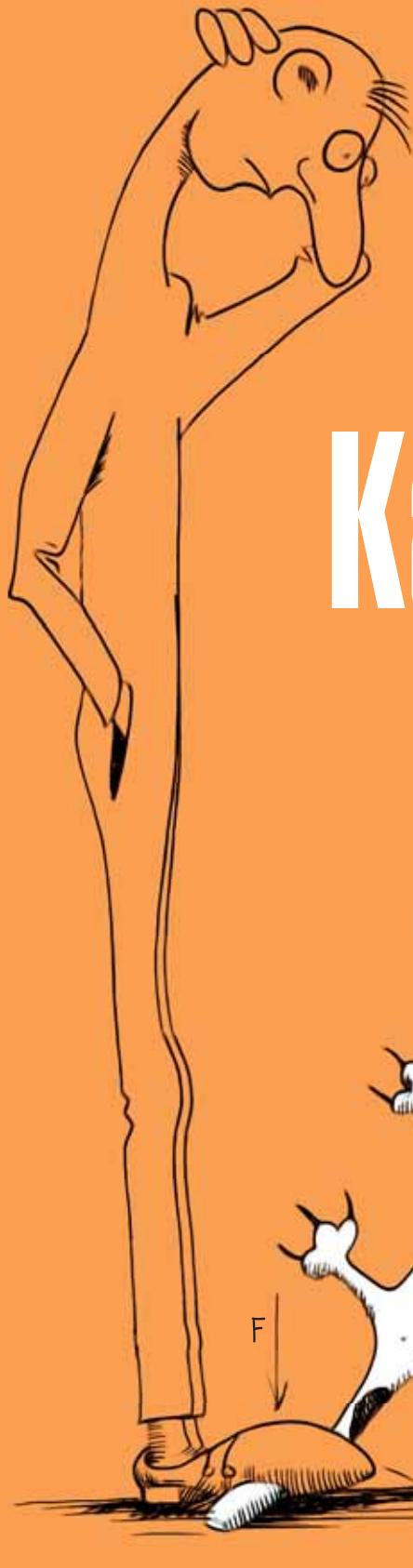
А. В. БАРАНОВА

Распространенное мнение о том, что «стресс у человека в голове» и достаточно просто расслабиться, чтобы он сам собой исчез, неверно. На самом деле стресс существует объективно, у него есть физические носители – это множество молекул, активность и количество которых может возрастать во время стресса. К счастью, есть и антистрессовые молекулы.

С точки зрения ученого, самое ужасное, что можно сказать про стресс – это то, что у нас пока нет никакого объективного способа его измерить. Измерять количество каждой стресс-молекулы по отдельности нет смысла, потому что у разных людей или в разных случаях может быть, например, большой стресс по молекуле А и маленький по молекуле Б. Нужен какой-то интегральный показатель. А измерять стресс нужно, чтобы мы, наконец, научились понимать, что же происходит с нашим организмом, когда мы переживаем те или иные события

Как измерить СТРЕСС

и для чего это нужно



P звуковая мощность стресса = 160 гБ

U электрическое напряжение стресса = 220 В

λ улыбка стресса = 95 см

Ключевые слова: стресс, окислительный стресс, внеклеточная ДНК, апоптоз, долгосрочный мониторинг здоровья, здоровье здоровых людей, персонализированная медицина, генетическое тестирование
Key words: oxidative stress, cell-free DNA, biosensors, apoptosis, longitudinal monitoring, stress, personalized medicine, genetic tests

© А. В. Баранова, 2017



Молекулярную основу стресса составляют активные формы кислорода: это высокореактивные соединения, повреждающие клеточные макромолекулы – белки и ДНК. Стресс пропорционален уровню активных форм кислорода, который может увеличиваться или снижаться в зависимости от общего состояния клетки. Заметьте, здесь мы говорим о клеточном стрессе, однако у стресса в нашем обычном понимании, т. е. классического стресса по концепции Г. Селье, тоже есть физические носители. Эти носители вызывают рост уровня активных форм кислорода, а значит, и клеточный стресс.

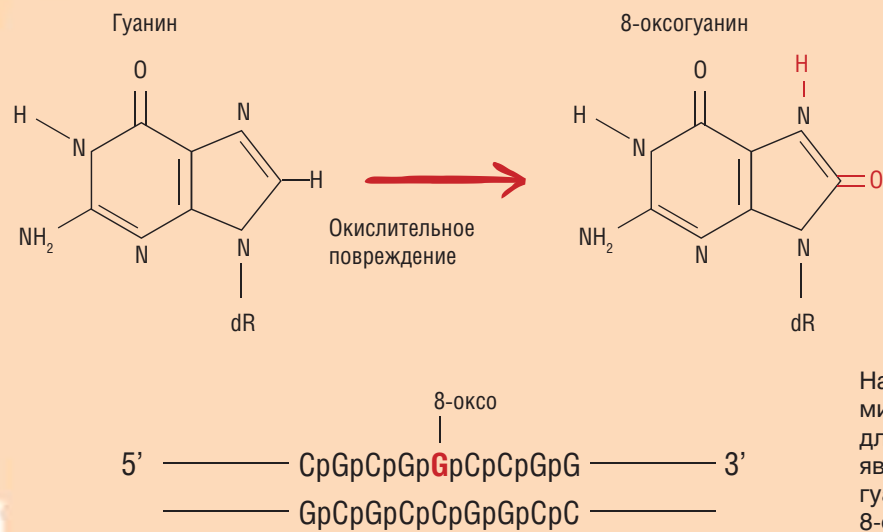
Такой стресс «распределяется» в нашем теле неравномерно. Иногда его можно наблюдать в одной отдельно взятой ткани, при этом другая остается в полном порядке. Например, гипоксическое состояние, сопровождающее мигрень, является стрессом для тканей мозга, а вот ноги при этом могут и не страдать. Но если человеку пришлось много бегать без привычки, у него пострадают ноги, но не голова.

Боль – это тоже стресс. Вообще, если вы чувствуете себя плохо: – вас тошнит или шея болит – значит, у вас стресс, даже если нет видимых повреждений в организме. Скажу больше: если на вас кричит начальник (или свекровь), эти люди наносят тканям вашего мозга вполне реальные повреждения, которые можно измерить количественно. От громкого, эмоционально окрашенного звука в тканях мозга повышаются уровни активных форм кислорода, а от этого, в свою очередь, страдают и нейроны, и питающие их астроциты, и эндотелий кровеносных сосудов. Есть хорошая модель стресса для мыши, когда подопытное животное

БАРАНОВА Анча (Анна) Вячеславовна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории функциональной геномики Медико-генетического научного центра РАН (Москва), профессор Школы системной биологии Университета Джорджа Мейсона (Фэрфакс, Вирджиния США), директор Центра по изучению редких заболеваний и нарушений метаболизма Колледжа науки Университета Джорджа Мейсона, научный директор биомедицинского холдинга «Атлас» (Москва). Автор и соавтор 150 научных работ и 10 патентов

на несколько часов сажают в узкую пластмассовую трубку и тем самым обездвиживают. При этом мышь никак не «повреждают» физически, но у нее возникает чудовищный стресс, и если с животным поступить так неоднократно, оно погибнет.

Ученые подбираются к объективной оценке стресса уже давно. Говоря в общем, уровень стресса можно измерить, отслеживая в крови разные активные формы кислорода и другие окислители, поврежденные белки и ДНК, а также различные компоненты наших собственных антиоксидантных систем. К сожалению, каждая из этих молекул, в совокупности называемых *биомаркерами стресса*, отражает какой-то один аспект этого феномена, но не стресс в целом. Кроме того, для объективной оценки каждого из этих параметров, в какой-то степени отражающих общий уровень стресса, надо сдавать кровь в лаборатории, и никто не будет делать это каждый день. Мы нашли способ делать это легко и просто, так, чтобы каждый человек мог ежедневно и ежечасно следить за уровнем стресса в своем организме.



Наиболее чувствительной мишенью в составе ДНК для активных форм кислорода является азотистое основание гуанин, а продукт этой реакции – 8-оксогуанин – считается одним из основных биомаркеров окислительного повреждения ДНК

Окисленная ДНК как маркер стресса

Известно, что в крови присутствует некоторое количество свободно плавающей внеклеточной ДНК. В основном эта ДНК попадает в кровь из клеток, гибнущих в процессе *апоптоза* (запрограммированной клеточной смерти). Количество клеток, подвергающихся апоптозу, и степень поврежденности этой ДНК активными формами кислорода пропорциональны уровню стресса, которому подверглись наши клетки.

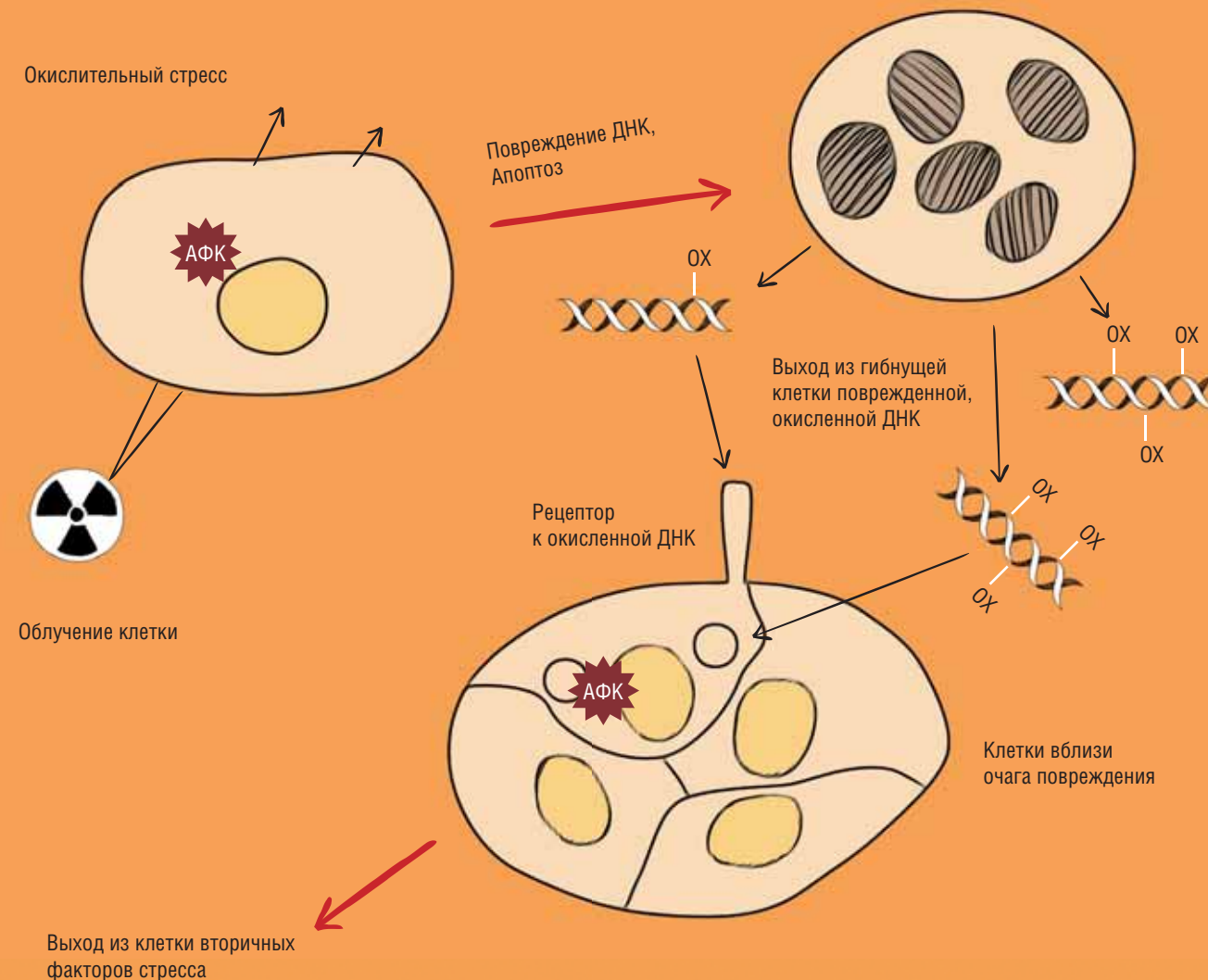
В исследованиях, проведенных автором в стенах Медико-генетического научного центра РАМН совместно с д.б.н. Н. Н. Вейко, был разработан способ оценки общего уровня стресса на основе степени окисленности внеклеточной ДНК, точнее, отношения количества нормального азотистого основания *гуанина* к поврежденному – *оксогуанину*. Этот маркер отражает уровень стресса, накопленного примерно за сутки. Нет большого смысла измерять стресс, накопившийся за месяц или три. А вот за сутки – это то, что надо.

Более того, оказалось, что выпущенная в кровь умирающими клетками окисленная ДНК, в свою очередь, является фактором стресса, «сообщая» другим клеткам организма о том, что где-то в недрах нашего тела не все в порядке. Получив эту информацию, даже клетки, удаленные от области повреждения, чувствуют себя неуютно и переходят в режим повышенной готовности к изменению их жизни не в лучшую сторону, т.е. подвергаются стрессу.

После этого совместно с компанией *Zansors* (США) мы придумали, что измерение уровня окисленной ДНК в крови можно выполнить электрохимическим методом. Когда ДНК контактирует с чувствительной матрицей своим гуанином или оксогуанином, возникает немного разный сигнал. Соотношение этих сигналов можно вычислить с помощью специального алгоритма и выразить в виде цифры. Это несложно: технически такая проблема уже решена, и с очень высокой точностью. Например, при работе секвенатора *Oxford Nanopore* через нанопору протягивается молекула ДНК, и в этот момент измеряется потенциал нуклеотида, он «прочитывается». У нас же более простая задача – посчитать общее количество «стандартной» и окисленной форм гуанина.

Вместе с *Zansors* мы планируем создать прибор, который будет выглядеть, как обычный браслет, но представлять собой биодатчик с микроиглочками, которые минимально инвазивно будут входить в контакт с межтканевой жидкостью. Такие микроиглочки также уже существуют, их производят несколько разных компаний. Мы предполагаем сделать так, чтобы на первом этапе датчик не выдавал численных данных, а только предупреждал об опасности. Если в организме что-то случилось, например микроинсульт, датчик выдаст сообщение, что надо срочно обратиться к врачу. Прибор следующего поколения будет выдавать число, суммирующее уровень стресса, полученного за день.

За такими биосенсорами – будущее, потому что они, наконец, позволят нам понимать, что именно мы с собой делаем каждый день. Например, один человек три раза



Концепция использования окисленной ДНК как основного кумулятивного маркера стресса. Любое неблагоприятное воздействие (к примеру, ионизирующая радиация) повышает образование в клетке активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительное повреждение ДНК и способствующих гибели клетки в результате апоптоза – клеточного «самоубийства». Выходящие в окружающую среду из умирающей клетки окисленные молекулы ДНК взаимодействуют с соседними клетками, также вызывая в них повышенное формирование АФК и выделение воспалительных цитокинов, которые тоже являются факторами стресса

в неделю ходит в спортзал, а другой – нет, но раз в год он с друзьями играет в футбол. Он думает, что принесет себе пользу, побегав на свежем воздухе до упада, а на самом деле нерегулярные занятия физкультурой наносят организму большой вред. И если у него на руке будет наш датчик, после такой тренировки сигнал резко пойдет вверх, и человек поймет, что так больше делать не надо. Или полет на самолете – это стресс, но насколько? Сколько, к примеру, я нанесла себе вреда тем, что прилетела в Новосибирск?

Конечно, здесь все индивидуально. В соответствии с представлениями Г. Селье, стресс можно подразделить на «хороший» *эустресс* и «плохой» *дистресс*. Но как же нам понять, что мы попали уже в зону дистресса? Ведь не зря говорят, что две свадьбы по уровню стресса – как одни похороны, а два переезда – как один пожар. Именно поэтому такие датчики стресса надо носить постоянно, и если сигнал будет колебаться вокруг базовой линии, то все более-менее в порядке. Но если

датчик вдруг выдаст пик – это точно плохо, и надо срочно принимать меры.

Однако с распознаванием хронического стресса не все так просто. Базовая линия на датчике будет разной для разных людей: датчик на человеке, живущем в хроническом стрессе, не покажет явных пиков. Именно поэтому биодатчик стресса нужно носить с молодых лет пока у Вас нет особых стрессов. Тогда, в случае появления хронического стресса, его можно будет определить по повышению базовой линии.

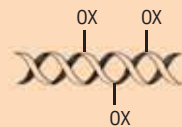
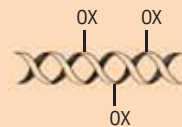
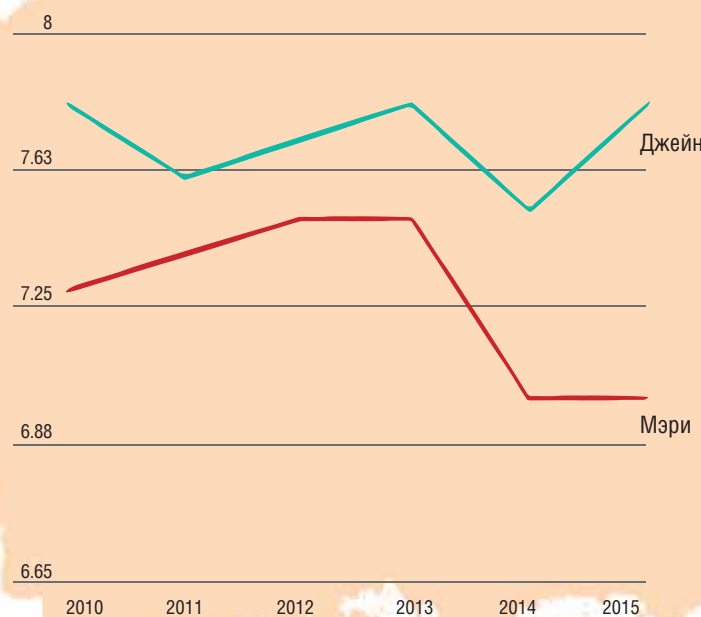
Чувствительные и устойчивые

Чувствительность к стрессу определяется генетически. Свой статус можно узнать, пройдя генетическое тестирование на присутствие или отсутствие некоторых генных вариантов, например, в компании «Атлас», которая проводит такое тестирование в России.

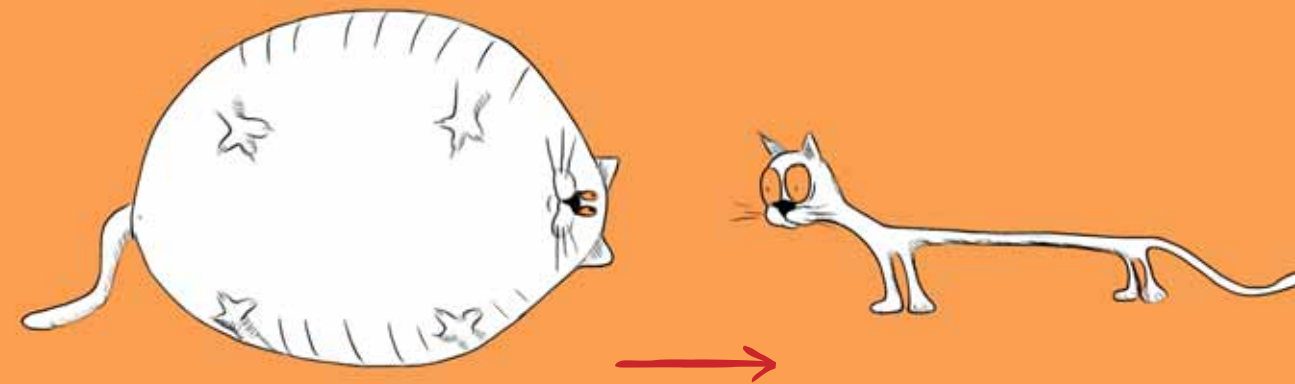
В качестве яркого примера значимости индивидуальной чувствительности к стрессу можно привести работу ученых В. И. Глазко и Т. Т. Глазко, возглавлявших генетическую программу по исследованию последствий

аварии на Чернобыльской АЭС для животных, обитавших в зоне заражения. В том числе они изучали коров, брошенных при эвакуации. На следующий год после аварии у коров родились вполне здоровые телята, но их было немного. В обычных условиях свободного выпаса корова рождает в среднем 0,9 теленка в год, а у чернобыльских буренок этот показатель был вчетверо ниже. Но во втором поколении, хотя радиация и не исчезла, рождаемость нормализовалась, произошла адаптация. Для первого же поколения коров появление радиации было сильным стрессом, который вызвал высокую смертность эмбрионов на этапе имплантации в стенку матки. И было показано, что при высоком радиационном стрессе погибли именно эмбрионы с генотипами, чувствительными к стрессу.

Описанная ситуация типична не только для всех крупных малоплодных животных, но и для людей. Например, если семейная пара переехала жить из деревни в город (это сильный стресс), то при попытке завести детей в матку женщины, возможно, будут имплантироваться только эмбрионы с устойчивым к стрессу генотипом, а неустойчивые подвергнутся



Пример измерения 8-оксогуанина, отражающего уровень стресса, в крови двух людей, Мэри и Джейн, в течение нескольких лет. Из графика видно, что Мэри смогла наладить свою жизнь, снизив уровень стресса, а вот Джейн это никак не удается. Такие измерения можно проводить как с помощью лабораторных методов (ELISA или масс-спектрометрия), так и с помощью биодатчиков. По оси Y – условные единицы



Высокое потребление энергии
Активный рост и развитие
Хорошо функционирующая репродуктивная функция

Воздействие на эндокринную систему

Сокращение потребления энергии
Остановка роста и развития
Снижение репродуктивной функции
Высокая устойчивость к стрессу

Чувствительность или устойчивость к стрессу во многом определяются функционированием эндокринной системы. Так, в экспериментах на черве *C. elegans* подавление действия некоторых гормонов, в частности инсулина и гормона роста (с помощью создания генно-инженерных штаммов, например, без рецепторов к этим гормонам), повышает устойчивость к стрессу и может продлить продолжительность жизни червя в шесть раз

действию отбора, т.е. погибнут. Будущая «застрессованная» мама об этом даже не догадается, просто для наступления беременности ей потребуется не месяц-два, а четыре или пять.

Вполне возможно, что волнующие общество проблемы размножения у людей можно объяснить повышенным уровнем стресса. В нормальных природных условиях – вдали от дорог, при наличии сохранных мест обитания – животные размножаются без особых проблем. Даже у инбредных гепардов, происходящих из одной, очень маленькой популяции, которая обитает в Смитсоновском питомнике недалеко от Вашингтона, наблюдается стопроцентная фертильность после единичного полового акта. У человека же, несмотря на большое генетическое разнообразие, это далеко не так. Возможно, дело в том, что мы живем в субоптимальных, т.е. не вполне оптимальных условиях. Мы научились подавлять мысль, что уровень стресса, с которым мы сталкиваемся в повседневной жизни, весьма высок, но он все равно делает свое «черное» дело.

На протяжении большей части своей биологической истории люди общались в основном в пределах

собственной семьи, т.е. с очень ограниченным кругом других людей. Сейчас вокруг нас – толпы. А ведь человек каждый раз, когда видит другого человека, должен оценить, кто перед ним: друг, враг и т.п. Процесс принятия решения происходит непроизвольно, однако даже бессознательное принятие ежесекундных решений – это стресс. Это как в старом психологическом анекдоте, когда пациент жалуется доктору, что ненавидит работу, где он сортирует апельсины: большие, маленькие, средние... И, конечно, прежде всего при таком стрессе страдают чувствительные генотипы.

Биосенсоры – разнообразие идей

По поводу биосенсоров есть много интересных идей. Например, в компании *Zansors*, где я была научным консультантом, мы сделали и испытали прототип биосенсора на алкоголь. Он совсем не инвазивный – измерение степени опьянения происходит по поту – и выглядит как нашивка на груди. С точки зрения

биологии и химии детекция алкоголя – очень простая вещь, и мы ничего принципиально нового не придумали, просто сделали приборчик, который можно использовать незаметно. Вот сидите вы в баре с девушкой и говорите: «Дорогая, мне пора подышать в трубочку, а то вдруг я упаду в лужу по дороге к тебе домой...» Как-то странно звучит, да? А вот если датчик, спрятанный под рубашкой, незаметно пошлет вам сигнал на айфон: «Дзынь», – пора остановиться, а то может случиться конфуз... Совсем другое дело!

В Америке можно выпить и потом сесть за руль. Хотя предел допустимой концентрации алкоголя в крови есть, но он гораздо менее жесткий, чем в России, и многие люди балансируют на этой грани. Но рисковать им не хочется, а высчитывать дозу бессмысленно, потому что не только у разных людей реакция организма на алкоголь разная, но даже у одного человека организм может повести себя необычно в ответ на «обычную» дозу, например, если он недавно перенес грипп. Биосенсор поможет это контролировать.

В России пить за рулем нельзя. Но можно сделать так, чтобы датчик при некотором пороге «принятого на грудь» подавал сигнал на сотовый. Человек сидит в баре, и ему приходит СМС-сообщение: «Дружок, тебе хватит». Или его жене: «Дорогая, забирай» – и координаты бара. Мы прототип такого датчика в Америке уже испытали на добровольцах, так сказать, в полевых условиях: на банкете, на конференции. Люди пили напитки, а мы записывали, что они пили, а потом снимали данные с датчика, приклеенного под рубашкой, и сопоставляли данные с дыхательным тестом. «Испытатели» от прибора были в восторге, единственная «просьба о доработке» поступила от чрезвычайно волосатого мужчины, который с большим трудом отклеил наш датчик от груди. Кстати, эта работа поддержана государством, которое очень хочет, чтобы люди контролировали, сколько именно они пьют, и ответственно относились к уровню алкоголя.

В той же компании разработали, и тоже на государственные деньги, прототип прибора, который с помощью тест-полосок измеряет в воде концентрацию ионов железа, свинца и ртути. Человек может измерить, сколько свинца, например, в воде из крана в его доме, а после этого данные с координатами места по Wi-Fi автоматически посылаются в «облако». Допустим, людей с такими приборчиками много, и каждый измерил свинец, скажем, у себя на дачном участке и у своих друзей. А государство в масштабах страны получило карту районов, где превышена ПДК по свинцу.

Несколько лет назад был скандал в американском городке Флинт Хилл, где когда-то, «на заре цивилизации»,

муниципалитет установил свинцовые трубы. Потом трубы заменили, но старые остались лежать в земле, про них забыли. Когда новые трубы начали подтекать, в них стал просачиваться свинец. В районе начались странные проблемы со здоровьем, например, с интеллектуальным развитием у детей. Причину нашли далеко не сразу, и много людей пострадало. При наличии подобных датчиков причину нашли бы гораздо быстрее.

Мы хотим развить эту технологию, чтобы можно было детектировать с помощью тест-полосок наличие ртути в морской рыбе, в которой ее бывает слишком много. Но ртуть в рыбе находится не в виде ионов, а в виде ртутьорганических соединений, и сделать простой тест на эти соединения сложно. Однако у меня имеется на этот счет пара идей.

Есть биосенсоры, которые применяют спортсмены, чтобы тренироваться оптимально. Например, уже выпускается измеряющий усталость мышц датчик *молочной кислоты (лактата)* для велосипедистов. Но ведь можно измерить и другие важные для спортсменов вещи, например, уровень электролитов в крови, глюкозы, да и просто гидратации...

Возвращаясь к стрессу, скажем несколько слов о борьбе с ним. Ходить за рекомендациями по борьбе со стрессом к врачу практически бесполезно. Вы либо услышите общую рекомендацию типа «постарайтесь не спорить с мамой и вообще не нервничать», либо получите рецепт на успокоительные таблетки. Но пить таблетки, которые влияют на работу мозга, с моей точки зрения, не очень хорошая идея, за исключением случаев серьезной патологии вроде шизофрении. С другими, более «мягкими» состояниями лучше справляться немедикаментозными способами, например, снижать общую выраженность патофизиологических процессов в организме. Немедикаментозные стратегии снижения уровня стресса существуют. На самом деле, их принципы давно известны. Самая простая и универсальная стратегия – сон, во сне человек восстанавливается. После сильного стресса поспать часиков десять – отличная с точки зрения физиологии идея. Однако мы обычно чувствуем себя виноватыми, что проспали лишние два-три часа, и зря.

Можно принимать и антистрессовые биодобавки. Но тут есть нюанс. Биодобавки практически не стандартизируются. Не в том смысле, что их применение антинаучно, наоборот, для большинства биодобавок есть целая куча научных данных, описывающих эффекты этих природных соединений. Однако одну и ту же биодобавку может выпускать десяток разных фирм, да и у конкретной компании сырье для производства может

поступать то из одной страны, то из другой. Нередки случаи, когда выяснялось, что какое-то растение было собрано в Китае вблизи автомагистрали. Это означает, что вместе с полезным антиоксидантом вы имеете шанс заодно подзарядиться и опасной дозой свинца, которая сведет на нет всю пользу от недешевого БАДа. Пока, к сожалению, у покупателя нет никаких способов оценить качество биодобавки, содержащейся в конкретной баночке, кроме органолептических показателей (цвет, запах, консистенция), а также такого весьма ненадежного показателя, как «общее самочувствие»...

Если будет создан датчик, измеряющий стресс, то, начав принимать какой-либо препарат, можно будет увидеть, что человеку помогает, а что – нет. Возможно, что-то наоборот вредит, к примеру, если при экстрагировании полезного вещества применялась хроматографическая очистка с использованием органических растворителей, которые сами – источник стресса.

Вероятно, тут есть возможности для создания огромного рынка по тестированию биодобавок. Можно организовать целую новую отрасль, занимающуюся стандартизацией относительной активности природных веществ, находящихся вне поля лекарственных средств, по суррогатному маркеру – по уровню окислительного стресса. Проводить клинические испытания не по симптомам болезней, а по биомаркерам гораздо проще и дешевле. И это даст хоть какую-то стандартизацию для так популярных в народе биоактивных препаратов.

Помните: у стресса нет единой причины. Просто мы, люди, тесно взаимодействуем с окружающей средой

и друг с другом, поэтому стресс неизбежен. Универсального решения проблемы стресса просто нет. Но надо стараться справляться с ним, используя для этого все возможности.

Литература

Ermakov A. V., Konkova M. S., Kostyuk S. V. et al. Oxidized extracellular DNA as a stress signal in human cells // *Oxid Med Cell Longev*. doi: 10.1155/2013/649747.

Gassman N. R. Induction of oxidative stress by bisphenol A and its pleiotropic effects // *Environ Mol Mutagen*. 2017. V. 58. N. 2. P. 60–71.

Gems D., Partridge L. Genetics of longevity in model organisms: debates and paradigm shifts // *Annu Rev Physiol*. 2013. N. 75. P. 621–644.

Glebova K., Veiko N., Kostyuk S. et al. Oxidized extracellular DNA as a stress signal that may modify response to anticancer therapy // *Cancer Lett*. 2015. V. 356. N. 1. P. 22–33.

Li-Pook-Than J., Snyder M. iPOP goes the world: integrated personalized Omics profiling and the road toward improved health care // *Chem Biol*. 2013. V. 20. N. 5. P. 660–666.

Mertz L. Convergence Revolution Comes to Wearables: Multiple Advances are Taking Biosensor Networks to the Next Level in Health Care // *IEEE Pulse*. 2016. V. 7. N. 1. P. 13–17.

Wright S. P., Hall Brown T. S., Collier S. R. et al. Sandberg K. How consumer physical activity monitors could transform human physiology research // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2017. V. 312. N. 3. P. 358–367.

