

ОТ РЕДАКЦИИ



Алексей Матвеевич Оловников (1936–2022)

DOI: 10.31857/S0320972523110015, EDN: MPMSGU

Номер посвящён памяти яркого учёно-геронтолога Алексея Матвеевича Оловникова, чьи теоретические работы об укорочении теломер лежали у истоков нового направления науки – молекулярной биологии старения. Алексей Матвеевич был членом редакционной коллегии журнала; с его лёгкой руки журнал стал регулярно публиковать статьи геронтологической тематики. Начало этой традиции положил номер, полностью посвященный проблемам старения и укорочению теломер, авторами которого были ведущие мировые специалисты в этой области, откликнувшиеся на приглашение Алексея Матвеевича (№ 11, 1997).

На протяжении своей долгой научной деятельности Алексей Матвеевич Оловников опубликовал на страницах «Биохимии» полтора десятка статей (первая вышла в 1960 г., последняя – в 2022 г.), большинство из которых были теоретическими. Данным номером, в котором мы постарались собрать статьи об актуальном состоянии проблемы и различных аспектах старения и развития, мы отдаём дань памяти этому неординарному учёному и прекрасному человеку.

Первая статья (Н.И. Оловникова и др., стр. 2038) посвящена научной биографии Алексея Матвеевича Оловникова. Обзор R. Yuan и др. (стр. 2051) анализирует влияние физиологических факторов, таких как скорость роста, полового созревания и плодовитость, на процесс старения и продолжительность жизни. В обзоре Е.Е. Егорова (стр. 2066) обсуждается история и актуальное состояние науки о тело-

мерах и теломеразе. В.Е. Дьяконова (стр. 2084) подробно рассматривает тему, которую Алексей Матвеевич неоднократно обсуждал в своих геронтологических гипотезах: проблему нестабильности генома нейронов и физиологической роли этого явления. В статье А.А. Москалева (стр. 2101) представлен систематический взгляд на современные подходы к поиску геропротекторов. А.И. Калмыкова и О.А. Соколова (стр. 2109) рассматривают биологию терминальных мобильных элементов – альтернативного пути удлинения теломер, и обсуждают эволюционное сходство этого процесса с теломеразным механизмом. Статья И.Р. Архиповой и И.А. Юшеновой (стр. 2127) является подробным обзором важнейшего семейства ферментов – обратных транскриптаз – в эволюционном контексте, а также затрагивает малоизученную проблему их доместикации. В обзоре А.Ю. Ратушного и Л.Б. Буравковой (стр. 2138) представлен оригинальный взгляд на сходства естественного клеточного старения и эффектов микрогравитации. И, наконец, статья Л.А. и Н.С. Гавриловых (стр. 2156), классиков статистического подхода в геронтологии, исследует исторические изменения темпов роста смертности с возрастом с использованием когортных данных.

Мы благодарны всем авторам, которые откликнулись на приглашение и написали статьи для этого специального выпуска.

*Редакция журнала «Биохимия»
и приглашённый редактор номера И.А. Оловников*

Фотография опубликована с разрешения издательства «Бослен».

УДК 573.2

«НА МЕСТЕ ПРИРОДЫ Я БЫ СДЕЛАЛ ТАК...». ЖИЗНЬ И ГИПОТЕЗЫ АЛЕКСЕЯ ОЛОВНИКОВА

Обзор

© 2023 Н.И. Оловникова¹, И.А. Оловников^{2*}, А.И. Калмыкова³

¹ ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, 125167 Москва, Россия

² Bioivision Ventures, Люксембург; электронная почта: ivan.olvnikov@gmail.com

³ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334 Москва, Россия

Поступила в редакцию 12.07.2023

После доработки 25.09.2023

Принята к публикации 25.09.2023

В этой статье мы вспоминаем жизненный и научный путь блестящего геронтолога-теоретика Алексея Матвеевича Оловникова (1936–2022). В 1971 г. он опубликовал свою известную гипотезу о «маргинотомии», в которой предсказал репликативное укорочение теломер и его роль в качестве счетчика делений клеток и биологического возраста организма. В этой работе было сделано несколько ярких предположений, в частности о существовании теломеразы, которые через два десятилетия были подтверждены. Несмотря на это, Алексей Матвеевич двинулся дальше в своих теоретических исследованиях старения и выдвинул ряд новых гипотез, которые кажутся не менее экзотичными, чем в свое время казалась гипотеза маргинотомии. Алексей Матвеевич Оловников обладал незаурядным видением биологических проблем и, помимо старения, является автором ярких работ на темы развития, биоритмов, эволюции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Оловников, маргинотомия, теломеры, старение, принтомеры, хрономеры.

DOI: 10.31857/S0320972523110027, **EDN:** MWOKNY

ВВЕДЕНИЕ

В международной научной среде Алексей Матвеевич Оловников (1936–2022) наиболее известен благодаря своей провидческой работе об укорочении теломер и роли этого процесса в старении (1971–1973) (рис. 1). Коллеги знали его как интересного собеседника, которого волновали в первую очередь нерешенные проблемы биологии и который всегда взбудоражит своими вопросами даже скучный семинар. Для родных и близких он был человеком жизнерадостным, мягким, нетребовательным и любопытным до всего на свете. Но для всех была очевидна одна его черта – неординарность, которая проявлялась во всем, начиная от бытовых вещей (например, раскладывания документов на полу, потому что на столах вечно не хватало места) до дела всей его жизни – теоретической биологии (статьи его можно считать какими угодно, но, точно, не ординарными). А еще он очень любил термины и сокращения, и, используя его собственную аббре-



Рис. 1. Алексей Матвеевич Оловников (1936–2022)

* Адресат для корреспонденции.

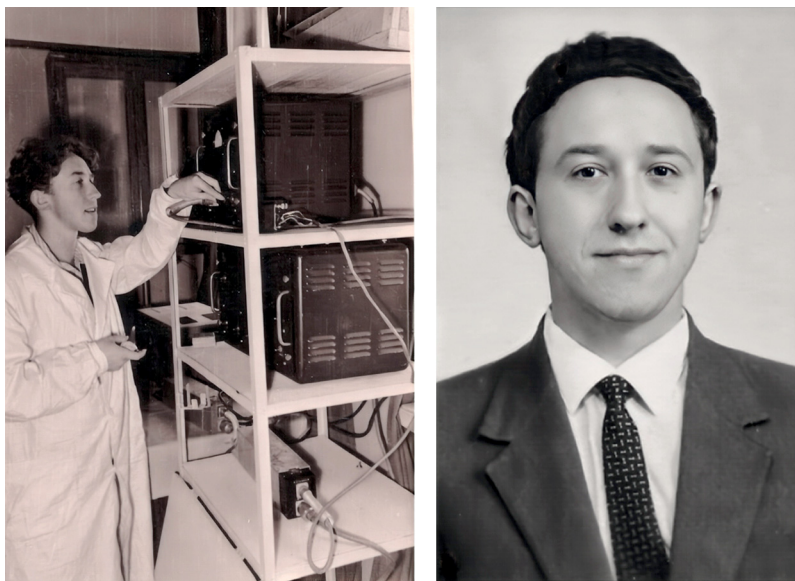


Рис. 2. А.М. Оловников – университетские годы (1953–1959 гг.)

виатуру, мы будем в этой статье называть его АМО. В этом очерке мы делаем краткий биографический экскурс и вспоминаем научный путь АМО.

БИОГРАФИЯ

Алексей Матвеевич родился 10 октября 1936 г. во Владивостоке, куда был направлен в рабочую командировку его отец – журналист Матвей Семенович Корман. Помимо журналистики, отец был инженером-изобретателем, и ему принадлежали несколько патентов. Матвей Семенович родился в еврейском местечке в Беларуси, в семье, из которой вышли талантливые художники, писатели, инженеры, герои Великой Отечественной войны. Мать АМО, Татьяна Алексеевна Оловникова, происходила из семьи купцов и предпринимателей старинного купеческого центра, города Раненбурга, где и сейчас в одном из особняков Оловниковых располагается городская администрация, а на берегу реки еще можно рассмотреть стены табачной фабрики Оловниковых. В 1941 г. Матвей Семенович был командирован на фронт военным журналистом от газеты «Медицинский работник» и без вести пропал в Украине осенью того же года. Татьяна Алексеевна закончила Московский педагогический институт, защитила кандидатскую диссертацию по психологии, после чего всю жизнь работала доцентом-преподавателем психологии.

Научный путь АМО начался с обучения на кафедре Биохимии биолого-почвенного факультета Московского государственного уни-

верситета имени М.В. Ломоносова, куда он поступил в 1953 г. (рис. 2). В университетские годы АМО заинтересовала иммунология, и он поступил в аспирантуру Института эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи в Отдел иммунологии и онкологии под руководством Л.А. Зильбера – человека потрясающей и тяжелой судьбы, создателя противочумной и других вакцин, пионера в поиске раковых антигенов, одного из отцов-основателей вирусной теории происхождения рака [1]. Позже АМО работал под руководством Г.И. Абелева, возглавившего отдел после смерти Льва Зильбера, в Лаборатории химии и биосинтеза антител А.Е. Гурвича. Всю жизнь АМО вспоминал своих учителей, а пример Льва Зильбера и его кредо – «счастье в жизни, а жизнь в работе» – кажется, никогда не выходило у него из головы.

АМО попал в Институт им. Н.Ф. Гамалеи в то время, когда институт переживал свой расцвет, и туда приезжали по приглашению Зильбера многие выдающиеся зарубежные иммунологи. В годы работы в Институте имени Н.Ф. Гамалеи АМО занимался различными темами прикладной иммунологии и опубликовал несколько интересных работ (рис. 3). Экспериментальная работа и тема кандидатской диссертации была посвящена разработке и применению иммуносорбентов в качестве диагностикумов и для иммунизации животных. Список публикаций по теме кандидатской диссертации украшала статья в журнале «Nature» в соавторстве с научным руководителем Ароном Гурвичем [2]. В ней они описали мощнейшее усиление иммуногенности при



Рис. 3. А.М. Оловников в институте им. Н.Ф. Гамалеи (1960-е гг.)

ковалентной сшивке антигена с нерастворимым носителем при иммунизации кроликов полученной суспензией. В 1966–1969 гг. был разработан новый иммунохимический метод — агрегат-гемагглютинация, который позволял с высокой чувствительностью выявлять растворимые антигены и был использован при тестировании микробных токсинов, опухолевого маркера альфа-фетопротеина и др. [3–7]. АМО перевел на русский язык несколько книг, среди которых были «Целостность организма и иммунитет» Ф. Бернета (Мир, 1964) и «Сравнительная иммунология» Э. Купер (Мир, 1980) [8, 9]. В 1977 г. АМО стал руководителем группы в Институте химической физики (ИХФ РАН), где он разрабатывал иммунохимические методы, руководил кандидатскими диссертациями. Затем в течение всех последующих лет был сотрудником Института биохимической физики имени Н.М. Эмануэля (ИБХФ РАН).

Интерес к иммунологии АМО сохранил надолго. Так, в 1972 г. он предложил механизм «изотранспозиции трансгенов», как способ генерации многообразия антител путем комбинирования так называемых «трансгенов» — многочисленных отличающихся по последовательности участков ДНК, которые находятся рядом в определенном локусе хромосомы [10]. Формирование переменных областей антител из таких блоков могло дать колоссальное число вариантов в зависимости от числа закодированных в ДНК трансгенов. Воссоединение индивидуальных трансгенов, согласно его гипотезе, должно было происходить через так называемое «экстракопирование», т.е. создание копий индивидуальных трансгенов, которые объединялись в кодирующий ген вне хромосомы. Сейчас мы знаем, что

это внутрихромосомный рекомбинационный процесс.

Теоретические находки АМО сильно опережали свое время и остались незамеченными во многом потому, что не были опубликованы в общедоступных журналах. Иммунологическая гипотеза была доложена на симпозиуме «Молекулярно-генетические основы биосинтеза антител» в октябре 1972 г. в Цахкадзоре (Армения) и опубликована в сборнике Института им. Н.Ф. Гамалеи «Вопросы иммунологии» в 1974 г. [10]. Примерно пятью годами позже Судзуми Тонегава обнаружил, что в процессе дифференцировки В-лимфоцитов переменные области тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов образуются путем соединения нескольких сегментов, каждый из которых представлен в локусе иммуноглобулиновых генов во множестве различающихся вариантов. В результате такой рекомбинации создается разнообразие антител. За это открытие в 1987 г. Тонегава получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине.

ТЕЛОМЕРНАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ

Не многим людям так посчастливилось, как АМО: природа наградила его поистине неугасимым интересом к науке. Ни одной секунды своей жизни он не скучал, не чувствовал себя не у дел. Нерешенные проблемы биологии АМО воспринимал как личный вызов, его голова постоянно требовала задач, а способность осмысливать научную информацию и вычленять из нее самое главное были уникальными. Гипотезы АМО временами очень сложны и содержат множество дополнительных построений, которые камуфлируют

основную мысль. Несмотря на то что утверждения в его статьях подкреплены литературными фактами, логические выводы были зачастую настолько необычны, неожиданны и оригинальны, что воспринимались как фантазии и даже вызвали неприятие и протест. Так было с теорией концевой недорепликации, или маргинотомии (укорочение концов хромосом), опубликованной впервые в *Докладах Академии наук СССР* в 1971 г. [11, 12]. Это самая известная теоретическая работа АМО. Удивительно точное предсказание не только существования самого феномена, но и происходящих из него биологических последствий, вызывали потом неподдельный интерес: ведь они были сделаны задолго до того, как укорочение теломер и его молекулярное обеспечение были обнаружены и исследованы.

История открытия началась в 1966 г. с лекции гистолога А.Я. Фриденштейна, на которой АМО услышал про недавно опубликованные данные Леонарда Хейфлика о том, что нормальные соматические клетки, фибробласты, не могут бесконечно размножаться *in vitro*, и, сделав около 50 удвоений, прекращают делиться [13]. Более того, в клетках заложена программа отсчета удвоений: после 20 делений Хейфлик замораживал клетки в жидком азоте; после того как клетки размораживали, они делали 30 удвоений. То есть клетки «помнили», что уже сделали 20 делений, и им осталось всего 30.

АМО рассказывал, что этот факт настолько его потряс, что он не мог думать ни о чем другом. Как могла быть устроена программа отсчета делений? Объяснение возникло, как всегда, не тривиальное. Представив, как работает репликативный комплекс, АМО пришел к выводу, что молекула ДНК не может быть реплицирована до самого конца, а раз так, то при каждом удвоении на своих концах она будет становиться короче. Укорочение ДНК до какого-то критического предела может приводить к нарушению функций околотеломерных генов и гибели клетки. Теломерная теория старения отводила механизму укорочения концов хромосом роль таймера, который отмеряет число делений клетки и объясняет лимит Хейфлика. Когда у АМО брали интервью, он рассказывал историю про то, что эта идея пришла ему в голову, когда он наблюдал за первым и последним вагонами поезда в метро и обратил внимание, что между концом поезда и дверью, куда входят люди, есть мертвая зона. И если вместо поезда представить ДНК-полимеразу, у которой каталитический центр не может достичь самого края матрицы, то наглядно проявляется проблема репликации теломер. АМО

описал рождение гипотезы о маргинотомии в автобиографической заметке [14].

Здесь стоит сделать отступление и сказать, что АМО дважды встречался с Леонардом Хейфликом. Первый раз – в Киеве на геронтологическом конгрессе в 1972 г. Он мечтал подробно рассказать Хейфлику о своем объяснении лимита удвоений, в основном для того и поехал на конгресс, однако подробно поговорить им тогда не удалось [14]. Вторая встреча произошла в 1998 г. в Сан-Франциско, где проходила конференция «Telomeres and Telomerase», которую АМО с Л. Хейфликом открыли совместным сообщением.

Многие предсказания, сделанные на основе тогда еще полностью умозрительной гипотезы маргинотомии, подтвердились. Например то, что концы теломер представлены буферной повторяющейся последовательностью ДНК, являющейся расходным материалом [15, 16]. Блестяще подтвердился также постулат о существовании в половых и стволовых клетках особой формы ДНК-полимеразы, которая компенсирует укорочение теломер при делении [17, 18]. Благодаря этому ферменту зародышевая линия не стареет и обеспечивает полноценную передачу генетической информации в бесконечном числе поколений. Эта специализированная обратная транскриптаза, названная теломеразой, была сначала обнаружена у инфузории *Tetrahymena* [19] и охарактеризована Элизабет Блэкберн и Кэрол Грейдер.

В статье, рассказывающей об истории открытия теломеразы, они пишут, что не знали о гипотезе советского ученого до 1988 г., когда Кальвин Харли привлек их внимание к этой работе [20, 21]. И тогда, заинтригованные, Грейдер и Харли решили проверить, укорачиваются ли хромосомы в клетках человека, и показали, что обнаруженный у *Tetrahymena* процесс является общебиологическим, как предсказал АМО [22]. С того времени число исследований, посвященных проблеме концевой недорепликации, начало расти в геометрической прогрессии.

Помимо существования теломеразы, АМО предсказал, что механизм, созданный природой для бессмертия зародышевой линии, открывает возможность для патологии: соматическая клетка может воспользоваться теломеразой и встать таким образом на путь бесконечного размножения [12]. Действительно, было показано, что в ~85% раков теломераза активирована [23]. Способность бактерий к неограниченному размножению и их «бессмертие» в теории маргинотомии были объяснены кольцевой формой их хромосомы: поскольку

кольцо не имеет концов, бактерии не нуждаются в упомянутой компенсаторной ДНК-полимеразе. Позже стало известно об еще одном способе защиты от укорочения – надстройке концов хромосом с помощью мобильных элементов [24]. Таким путем пошла дрозофила. У нее нет теломеразы, но зато на концы ее хромосом могут присоединяться ретротранспозоны – мобильные последовательности ДНК, способные перемещаться по геному с помощью механизма обратной транскрипции. Также в гипотезе АМО было сделано несколько других предположений. В том числе, что «антимаргинотомия» (т.е. удлинение теломер) может иметь терапевтическое применение. Наконец, но не менее важно, было предположено, что первопричиной старения является укорочение теломер и «гибель клеток, участвующих в регуляции активности гипоталамуса и других гомеостатических центров».

Больше всего АМО интересовали механизмы развития и старения, генетическое устройство программы, которая ведет организм по всему пути онтогенеза от зарождения к гибели. И теломерная теория идеально, как казалось в начале, описывает программу старения. Однако с течением времени накапливались данные, которые указывали на то, что теломерная теория работает для культивируемых клеток, но не объясняет старение целых организмов. Так, например, при сравнении диких и лабораторных мышей выяснилось, что длина теломер у них резко различается: у лабораторных она может быть в 10 раз длиннее [25]. Можно было предположить, что они должны жить дольше, чем их сородичи в дикой природе, но оказалось, что живут они тот же срок. Также были выведены мыши, у которых отсутствовала теломеразная активность. Они оказались полностью жизнеспособными, давали потомство, несмотря на отсутствие теломеразы, и старели подобно всем остальным [26]. И только в 4–5 поколении у таких мышей стали появляться проблемы, а шестое поколение оказалось бесплодным. Даже в пределах одного организма митотические счетчики в клетках разных дифференцировок работают по-разному и отсчитывают различное число удвоений. Не был найден теломерный «сигнал старения», а конец хромосомы даже в сенесцентных клетках, т.е. клетках, исчерпавших свой лимит делений, после укорочения оказывался стандартно упакован теломерными белками и защищен от экзонуклеаз. Несмотря на то что в целом предсказания теломерной теории подтвердились, для АМО не оправдалась надежда, что она станет универсальным прин-

ципом, объясняющим причину старения организма. Укорочение теломер, по его словам, является лишь свидетелем, но не причиной старения [27].

Таким образом, этот круг замкнулся: разочаровавшись в правильности своей теории маргинотомии для объяснения феномена старения, АМО оставил ей узкое применение для объяснения «продолжительности жизни» клеточной культуры, для чего гипотеза и была выдвинута с самого начала. Нужно было искать новое решение.

Следует отметить, что роль теломер в старении продолжает активно изучаться. Например, согласно новым данным, в сенесцентных клетках возникает дисфункция теломер, не зависящая от их длины, и эти повреждения в теломерах ряд исследователей считают важным чек-пойнтом, запускающим механизм гибели клетки [28, 29]. Более того, существует теломер-центрическая теория, согласно которой, так или иначе, многие признаки старения, включая дисфункцию митохондрий, активацию воспаления, нарушение структуры хроматина и изменение протеостаза, активируются через дисфункцию теломер [30, 31]. Роль теломер в старении является темой нескольких статей в данном номере, а также главной темой специального памятного выпуска журнала «*Biogerontology*».

ОБЩАЯ ТЕОРИЯ РАЗВИТИЯ И СТАРЕНИЯ

АМО был приверженцем запрограммированности старения и был уверен, что программа эта имеет конкретный генетический механизм, в который вовлечен ограниченный набор факторов и который природа легко регулирует в зависимости от эволюционных и популяционных потребностей. Обнаружив ряд несостыковок в своей предыдущей гипотезе, АМО развил ее, сделав более универсальной [27, 32–34] (рис. 4). Опорными позициями новой теории старения можно считать следующие: 1) маргинотомия является надежным счетчиком клеточных удвоений; 2) но при этом укорочение концов хромосом не играет принципиальной роли в старении организма; 3) необходимо учесть нейроэндокринную теорию старения Владимира Дильмана, которую АМО считал центральной для объяснения старения животных [35]; 4) старение является неотъемлемым этапом онтогенеза, и потому должен существовать единый регуляторный механизм развития – от зарождения до смерти.



Рис. 4. А.М. Оловников делает доклад на геронтологической конференции (2000 г.)

АМО приходит к выводу, что в основе поддержания активного дифференцированного состояния клетки и ее старения лежит укорочение особых, пока еще гипотетических, внехромосомных линейных молекул ДНК, несущих регуляторные гены и защищенных теломерными повторами так же, как и линейные хромосомы. Он назвал эти молекулы принтомерами, «принтами» определенных участков хромосомы [32–34]. Будучи однажды скопированы со своего хромосомного оригинала, тканеспецифичные принтомеры работают в делящихся клетках, определяя состояние клеточной специализации. По мнению АМО, на ранних этапах эмбриогенеза, когда короткое воздействие морфогена должно определить судьбу определенной группы клеток, создание принтомер является способом реализации позиционной информации. Согласно гипотезе, принтомеры кодируют малые РНК, ответственные за экспрессию нужных генов за счет декомпактизации определенных участков хроматина [34, 36]. Гипотеза предполагала строгую упорядоченность структуры хроматина относительно ядерной мембраны. Связываясь с комплементарными сайтами в хромосоме вблизи ядерной

мембраны, малые РНК могут на короткое время открывать ядерную пору (поэтому данный тип РНК был назван фРНК – фонтанная). В результате резкого поступления ионов из перинуклеарного пространства в ядро, причем в строго определенном месте, происходит локальная декомпактизация хроматина и активация набора генов данной дифференцировки. РНК-зависимая ионная регуляция конфигурации хроматина может участвовать в процессе инактивации X-хромосомы, в эффекте положения гена, в феномене доминирования. Как пишет АМО, «эукариоты изобрели перинуклеарную цистерну вокруг хромосом именно для того, чтобы обрести возможность строго локальных, прицельных, ионных манипуляций со своей хроматиновой информотекой». Укорочение принтомер со временем может приводить к снижению дозы регуляторных РНК, обеспечивающих поддержание необходимой активности хромосомных структурных генов. Однако и эту гипотезу он не считал исчерпывающей, поскольку она объясняла активность клеток и тканей, но не слаженную работу всего организма.

В соответствии с нейроэндокринной теорией Дильмана, направлять развитие, организовать и поддерживать сбалансированную работу всего организма и определять его старение может только центральный управляющий орган, «физиологический топ-менеджер», каковым у высших животных является ЦНС. Учитывая эти работы, АМО сделал предположение, что в нейронах мозга работают свои принтомеры, которые он назвал хрономерами и которые контролируют взросление и старение организма в соответствии с его биологическим возрастом [27, 32, 37, 38]. Старение объяснялось теперь не укорочением теломер как таковых, а укорочением концов экстрахромосомной ДНК и тем самым снижением дозы регуляторных РНК, необходимых для поддержания активности генов в клетках данного типа. Более конкретно, хромеры контролируют экспрессию гормонов и рецепторов к ним в нейроэндокринных и нейротрофических центрах ЦНС. Как следствие, они контролируют все разнообразие процессов, происходящих в организме. Старение АМО назвал «болезнью количественных признаков», вызванной изменением активности генов после критического укорочения этих внехромосомных счетчиков.

Еще одним важным пунктом новой гипотезы было то, что укорочение хрономер в нейронах должно происходить волнами в такт



Рис. 5. Академик В.П. Скулачев, А.М. Оловников и чл.-корр. В.Н. Анисимов на геронтологической конференции на о. Стромболи (Италия), организованной Волтером Пьерпаоли (2005 г.)

с инфрадианными ритмами. Такой вывод АМО делает на основе работ В. Пьерпаоли, который экспериментально исследовал роль нейро-эндокринных органов, в частности эпифиза, в развитии и старении животных [39, 40]. В одной из своих работ АМО подробно описал, как он представляет этот процесс [37]. Но главное, он приходит к заключению, что ритмы не могут быть эндогенными. Все живые существа на Земле подвергаются внешним циклическим воздействиям геофизической природы, которые не могут не влиять на их жизнедеятельность. Две гипотезы АМО, опубликованные в 2005 и 2022 гг., рассматривают воздействие гравитации, самого безотказного и вечного водителя ритма на Земле, на процессы развития и старения [37, 41] (рис. 5). Эти яркие и неожиданные концепции старения заставляют оторвать взгляд от микроскопа и вспомнить, что живые существа живут на планете Земля, в ее космическом окружении. Так, в гипотезе, опубликованной в 2005 г., постулировано существование физиологического «луна-сенсора», расположенного в клетках эпифиза (пинеалоцитах), которые реагируют на механическое воздействие кальциатов — давно описанного «мозгового песка» — при смене лунных циклов и гравитационного воздействия Луны [37]. Этот механизм объясняет резкие выбросы гормонов, смену циклов развития и ряд других явлений.

В своей последней «метрономной» гипотезе АМО формулирует новый взгляд на причину старения, отвергая наличие специальной

программы, сторонником существования которой он был на протяжении всей жизни [41]. Однако отказаться от существования вполне конкретного физиологического механизма, отсчитывающего биологическое время, АМО, конечно, не мог. Как и в лунасенсорной гипотезе, организм, живущий на Земле, рассматривается как мишень постоянного воздействия внешних мощных геофизических сил. Такими силами являются периодические смещения земной оси, которые приводят к изменению направления потока спинномозговой жидкости, что воспринимается волосковыми нейронами желудочков мозга (также давно описанного типа клеток). Это, в свою очередь, может запускать эпигенетические механизмы, опосредованные «темпоральной ДНК», влияющей на развитие. Старение в этой гипотезе рассматривается как пострепродуктивный этап развития, когда основная цель — продолжение жизни — выполнена, а темпоральная ДНК исчерпана. Как между собой соотносятся луна-сенсор и метроном, осталось не объясненным. Но, учитывая проницательные способности АМО и его дар научного предвидения, во всех его гипотетических построениях стоит разбираться. Эта последняя статья, опубликованная в журнале «Биохимия», была написана из последних сил, и главным источником этих сил была ответственность перед научным сообществом, невозможность не поделиться своими догадками.

Как видно, взгляды АМО претерпевали эволюцию на протяжении всей его карьеры.

Общая синтетическая гипотеза, состоящая из целого ряда концепций, создавалась АМО на протяжении многих лет, усложнялась, пестрила различными гипотетическими механизмами, новыми терминами, и была сложна для восприятия [42]. Однако стоит еще раз отметить, что ее базисными положениями являются: 1) наличие «парагенома», т.е. временных функциональных экстрахромосомных молекул ДНК; 2) централизованная регуляция процессов развития, осуществляемая ЦНС; 3) неумолимое воздействие двух счетчиков времени – внутреннего молекулярного (маргинотомия) и внешнего геофизического. Каждое из этих явлений в отдельности имеет множество экспериментальных подтверждений. К примеру, в последние годы начинают накапливаться данные о присутствии экстрахромосомной ДНК как в раковых, так и в нормальных тканях [43–45]. Частота встречаемости этого явления может указывать на то, что это вполне распространенный процесс, и не исключено, что в скором времени нас ждет очередное экспериментальное подтверждение гипотез АМО.

ЭВОЛЮЦИОННАЯ ТЕОРИЯ

АМО интересовали не только старение, биоритмы и онтогенез. В его библиотеке книги и оттиски по проблемам эволюции, пожалуй, занимают первое место по количеству. Ему, как и многим биологам, не давала покоя проблема ограниченности выбора при естественном отборе, поскольку процент случайно возникающих благоприятных мутаций очень низок. То, что случайных ошибок недостаточно, видел и сам Дарвин, и с тех пор, как пишет АМО, «эта старая заноза все еще остается в теле эволюционной теории» [46]. Адаптивная эволюция может быть успешной только при своевременной и достаточной изменчивости генома организмов, оказавшихся в необычной среде обитания. Если мутации являются топливом для отбора, то механизм, который своевременно поставляет это топливо, так же важен для эволюции, как естественный отбор. Кроссинговер тут не помогает: слепая перетасовка генов не создает принципиально нового. АМО предлагает модель специализированной «машины для эволюции» («креатрона») [46, 47]. Согласно гипотезе, для того чтобы направленно модифицировать геном половых клеток, т.е. создавать в нем неслучайные мутации, необходимо, чтобы молекулярные сигналы доставлялись от «упражняющегося» (по Ламар-

ку) органа в геном клеток зародышевой линии. АМО предлагает объяснение загадочному факту [48], хорошо известному эмбриологам: миграциям первичных половых клеток по развивающемуся эмбриону перед заселением их в гонады. Он выдвигает предположение, что этот процесс используется для приобретения первичными герминальными клетками тканеспецифических маркеров, благодаря чему половые клетки взрослого организма становятся восприимчивы к молекулярным сигналам тех органов, с которыми их предшественники, первичные половые клетки, контактировали в ходе раннего органогенеза. Согласно гипотезе, интерфейсом-ретранслятором, который получает сигналы от органов и после процессирования переадресует их в гонады, является нейронная проекция частей тела в мозге, наподобие «гомункулуса Пенфилда» [46–48]. Транснейронная доставка сигнала от определенного органа является адресной, т.е. направленной к неслучайным группам герминальных клеток. Эволюционная машина, таким образом, должна выглядеть как трансмиссия сигнала от органа, аномально функционирующего в связи с изменившимися условиями, в нейрональную проекцию в мозге, а оттуда – в гонады, где сигнал воспримут «тканеспецифичные» герминальные клетки. Итоговым результатом работы этой эволюционной схемы являются эпигенетические модификации строго определенных локусов в геноме половых клеток, которые соответствуют «упражняющимся» (испытывающим стресс) органам. Топографически неслучайные эпигенетические изменения возникают в популяции и передаются потомкам в массовом порядке, в результате чего частота полезных изменений у потомков резко возрастает. В течение нескольких поколений эпигенетические изменения имеют повышенный шанс стать генетически закрепленными. Дальнейшее развитие эволюционной теории посвящено проблеме, какая молекула может быть использована в качестве сигнала для неслучайных генетических изменений. В 2022 г. была опубликована дополненная эволюционная гипотеза, в которой обсуждается возможная роль стабильных циркулярных РНК, которые могли бы исполнять роль мессенджера из сомы в герминативный орган [46]. Примечательно, что появились первые публикации об изменении уровня коротких РНК в половых клетках животных при воздействии экологического стресса [49]. Эти изменения рассматриваются как начало адаптивного процесса в изменившихся условиях обитания.

ПОДХОД АЛЕКСЕЯ ОЛОВНИКОВА К НАУЧНЫМ ПРОБЛЕМАМ

Здесь мы даем краткий и поверхностный обзор работ АМО. Далеко не все работы он доводил до публикации, хотя прорабатывал тщательно каждую гипотезу. Как правило, столкнувшись с нерешенной проблемой, он собирал обширную литературу по теме и, казалось бы, не по теме, общался со специалистами, и все это в какой-то момент помогало ему рассмотреть проблему как бы сверху и увидеть недостающее звено в контексте уже известной структурной и функциональной организации биологического процесса. АМО так написал о своем подходе в статье, посвященной проблемам морфогенеза: «Увидеть весь океан разом, как единое целое, можно только со спутника, с которого не видны волны, но хорошо различимы подводные течения и другие океанические тайны. В этой работе я пытался подняться как бы на спутнике, понимая, что сделать обзор всей литературы по биологическому морфогенезу просто невозможно, но интересно попытаться по-новому взглянуть на некоторые все еще не разгаданные тайны этого волнующего процесса и дать им свою интерпретацию» [50].

АМО обладал редкой способностью видеть неочевидное и не бояться рассказать об этом. Наверняка какая-то часть его выводов и размышлений не подтвердится, однако во всех случаях, когда дело доходило до публикации, он был уверен в своей правоте и даже говорил, что на месте природы сделал бы только так и не иначе. При этом он считал, что зарождающуюся уязвимую гипотезу легко убить критикой и разрушительными вопросами, поэтому до поры до времени тщательно оберегал новые идеи и ни с кем ими не делился. Статьи АМО переполнены информацией из-за того, что, помимо гипотезы, туда помещались многочисленные следствия с подробными объяснениями и ответвлениями. Нельзя не признать, что статьи АМО читаются очень непросто, зачастую утомляют и раздражают читателей детальными гипотезами, построенными на гипотезе [42]. Трудно предугадать, что окажется провидческим в его статьях, и станут ли экспериментаторы проверять чужие идеи. Но мы хотим еще раз подчеркнуть, что гипотезы эти надо рассматривать также с высоты, и вычленять из них ключевое — идею и принципы.

Семинары, конференции, доклады, на которых присутствовал АМО в качестве слушателя, запоминались благодаря его активному

участию в обсуждении, неожиданным вопросам и интересным комментариям. У него отсутствовало стремление задать вопрос ради вопроса или посадить в лужу докладчика. Некоторые его комментарии и вопросы при этом были остроумными и смешными. Так, на знаменитой Молекулярной школе в Звенигороде после представления В.А. Геодакяном его теории об Y-хромосоме как компасе эволюции АМО сказал, что ему очень нравится эта теория, но он не понимает, «как с помощью Y-хромосомы отбираются женские прелести». На другом семинаре В.П. Скулачев привел свой любимый пример того, как старение способствует эволюции: молодому зайцу легко убежать от лисы, но с возрастом это становится все сложнее, и поэтому заяц поумнее спасется, а заяц поглупее будет съеден лисой. АМО тогда возразил: «Коли так, зайцы за много поколений доумнели бы до член-корргов!»

В 70–80-х гг. на биологическом факультете МГУ в корпусе «А» регулярно проходил легендарный семинар выдающегося математика И.М. Гельфанда, организованный для биологов [51]. Биологов там учили логике, используя самые бесцеремонные приемы. Попасты на семинар можно было только по приглашению его постоянного участника. А.Е. Гурвич, тогдашний научный руководитель АМО, привел на этот семинар своего молодого сотрудника. АМО вспоминал, что он, кажется, не произнес ни слова и только внимательно наблюдал за происходящим, однако вскоре А.Е. Гурвич, очень смущаясь, сказал, что И.М. Гельфанд просил больше не приглашать на семинар этого сотрудника. Что послужило причиной такого решения, АМО не интересовало, потому что стиль этого семинара был абсолютно неприемлем для него, не терпящего никакой несвободы в научных подходах и обсуждениях. Может быть, АМО не сдержался и высказал свое отношение к публичным поркам, происходящим на семинаре, а может быть, гениальный И.М. Гельфанд пронизательно увидел, что бритва Оккама* этого молодого человека не возьмет. Действительно, в одном интервью АМО писал, что, наслушавшись советов применить этот логический принцип, прежде чем опубликовать бредовую гипотезу об укорочении теломер, он почти возненавидел его. Ведь он в своих гипотезах как раз «множит сущности».

* Бритва Оккама — методологический подход, который рекомендует «не множить сущности», а из нескольких объяснений выбирать самое простое (например, состоящее из суммы уже известных явлений).



Рис. 6. А.М. Оловников с женой Н.И. Оловниковой на вручении Демидовской премии (февраль 2010 г.)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Надо признать, что АМО очень повезло в том, что, несмотря на отсутствие активного продвижения, одно из его предсказаний не только нашло экспериментальное подтверждение, но и породило новое направление науки, а ему самому принесло мировую известность. Биология теломер остается на острие науки уже несколько десятилетий, и, кажется, неисчерпаемы открытия все новых уровней регуляции теломер, какими, например, стали обнаружение теломерных транскриптов, теломерного сигналинга и многое другое. В 2009 г. АМО пережил пик популярности: группа ученых, обнаруживших и исследовавших теломеразу, получила Нобелевскую премию. АМО тоже был среди ученых, номинированных на премию, однако, как он пошутил: «Нобелевка прошла мимо кассы». Многих тогда интересовало, как он пережил такое разочарование? Однако если близко знать АМО, то будет понятно, что его взгляд на мир не предполагал обиды или разочарования. В книге Холла приводится его переписка с АМО как раз после получения американскими учеными Нобелевской премии. АМО писал, что рад подтверждению своей гипотезы, а еще тому, что вовремя опубликовал ее [21]. Написав эту работу в 1966 г., он только в 1971 г. опубликовал ее в русском журнале, а в 1973 — в международном. Зимой 2010 г. произошло приятное для него и памятное событие — получение Демидовской премии, почетной награды для ученых, учрежденной в 1831 г. промышленником П.Н. Демидовым (рис. 6). В инаугурационной лекции АМО рассказывал,

естественно, о своей основной работе, укорочении концов ДНК, взяв эпиграфом к докладу строки из стихотворения А.С. Пушкина: «...летят за днями дни, и каждый час уносит частичку бытия». Но даже на этой лекции он не преминул уточнить, что теломерная теория старения не верна, а ей на смену создана новая.

Возможно, АМО казался кому-то странным, кому-то — непонятным, необычным и сложным человеком, закрытым, если речь шла о частной жизни, но всегда очень отзывчивым и идущим на контакт, если речь шла о науке. Он очень ценил свободу — от догм, расписаний, формалистики — и, опять же, любил процитировать слова А.С. Пушкина про «праздность вольную, подругу размышленья». Мы часто, со школы, используем термин «цельная натура», и АМО, как никто другой, является примером такой природы. Он ни в коем случае не был человеком «не от мира сего», любил свою семью, интересовался всем на свете — от политики до околонуточных сплетен, и при этом радостный и ясный свет всегда присутствовал в его жизни — это страсть к науке.

Вклад авторов. Н.И. Оловникова, И.А. Оловников, А.И. Калмыкова — написание и редактирование текста статьи.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за фото Сергею Новикову (рис. 1 и 4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kisselev, L. L., Abelev, G. I., and Kissel'jov, F. (1992) Lev Zilber, the personality and the scientist, *Adv. Cancer Res.*, **59**, 1-40, doi: 10.1016/S0065-230X(08)60301-2.
2. Olovnikov, A. M., and Gurvich, A. E. (1966) Immunization with protein-cellulose co-polymer (immunosorbent), *Nature*, **209**, 417-419, doi: 10.1038/209417A0.
3. Gorina, L. G., Fluor, F. S., Olovnikov, A. M., and Ezepecuk, Yu. V. (1975) Use of the aggregate-hemagglutination technique for determining exoenterotoxin of *Bacillus cereus*, *Appl. Microbiol.*, **29**, 201-204, doi: 10.1128/AM.29.2.201-204.1975.
4. Abelev, G., Tsvetkov, V., Biriulina, T., El'gort, D., and Olovnikov, A. (1971) Evaluation of the use of highly sensitive methods of determining alpha-fetoprotein for the diagnosis of hepatocellular cancer and teratoblastoma, *Bull. Eksp. Biol. Med.*, **71**, 75-81.
5. Olovnikov, A. M. (1966) Antigen content determined from the agglutination of erythrocytes coated with antiserum proteins polycondensed by tetranitrogen diamonodiphenylamine, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **169**, 1180-1183.
6. Olovnikov, A. M. (1967) Sensitization of erythrocytes by polycondensed proteins of immune serum and their use for determining antigen content, *Immunochemistry*, **4**, 77-80, doi: 10.1016/0019-2791(67)90157-7.
7. Olovnikov, A. M., and Tsvetkov, V. S. (1969) Detection of embryonic alpha-globulin in the serum of patients with various forms of cancer by the aggregate-hemagglutination method, *Bull. Eksp. Biol. Med.*, **68**, 102-104.
8. Купер Э. (1980) *Сравнительная иммунология* (под ред. Н. Г. Хрушова), Мир, Москва.
9. Бернет Ф. (1964) *Целостность организма и иммунитет* (под ред. В. Л. Рыжкова), Мир, Москва.
10. Оловников А. М. (1974) Об изотранспозиции трансгенов как возможном механизме возникновения многообразия антител, *Вопр. иммун.*, **6**, 71-75.
11. Оловников А. М. (1971) Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов, *ДАН СССР*, **201**, 1496-1499.
12. Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
13. Hayflick, L. (1965) The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains, *Exp. Cell. Res.*, **37**, 614-636, doi: 10.1016/0014-4827(65)90211-9.
14. Olovnikov, A. M. (1996) Telomeres, telomerase, and aging: origin of the theory, *Exp. Gerontol.*, **31**, 443-448, doi: 10.1016/0531-5565(96)00005-8.
15. Blackburn, E. H., and Gall, J. G. (1978) A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in *Tetrahymena*, *J. Mol. Biol.*, **120**, 33-53, doi: 10.1016/0022-2836(78)90294-2.
16. Moyzis, R. K., Buckingham, J. M., Cram, L. S., Dani, M., Deaven, L. L., Jones, M. D., Meyne, J., Ratliff, R. L., and Wu, J. R. (1988) A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 6622-6626, doi: 10.1073/pnas.85.18.6622.
17. Greider, C. W. (1998) Telomeres and senescence: the history, the experiment, the future, *Curr. Biol.*, **8**, R178-R181, doi: 10.1016/S0960-9822(98)70105-8.
18. Martínez, P., and Blasco, M. A. (2011) Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins, *Nat. Rev. Cancer*, **11**, 161-176, doi: 10.1038/NRC3025.
19. Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts, *Cell*, **43**, 405-413, doi: 10.1016/0092-8674(85)90170-9.
20. Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1996) Telomeres, telomerase and cancer, *Sci. Am.*, **274**, 80-85, doi: 10.1038/scientificamerican0296-92.
21. Hall, S. S. (2003) *Merchants of Immortality: Chasing the Dream of Human Life Extension*, Mariner Books, New York.
22. Harley, C. B., Futcher, A. B., and Greider, C. W. (1990) Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts, *Nature*, **345**, 458-460, doi: 10.1038/345458A0.
23. Jafri, M. A., Ansari, S. A., Alqahtani, M. H., and Shay, J. W. (2016) Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies, *Genome Med.*, **8**, 69, doi: 10.1186/S13073-016-0324-X.
24. Pardue, M. L., Danilevskaya, O. N., Traverse, K. L., and Lowenhaupt, K. (1997) Evolutionary links between telomeres and transposable elements, *Genetica*, **100**, 73-84, doi: 10.1023/a:1018352706024.
25. Hemann, M. T., and Greider, C. W. (2000) Wild-derived inbred mouse strains have short telomeres, *Nucleic Acids Res.*, **28**, 4474-4478, doi: 10.1093/NAR/28.22.4474.
26. Blasco, M. A., Lee, H. W., Hande, M. P., Samper, E., Lansdorp, P. M., DePinho, R. A., and Greider, C. W. (1997) Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA, *Cell*, **91**, 25-34, doi: 10.1016/S0092-8674(01)80006-4.
27. Olovnikov, A. (2015) Chronographic theory of development, aging, and origin of cancer: role of chromosomes and printomeres, *Curr. Aging Sci.*, **8**, 76-88, doi: 10.2174/1874609808666150422114916.
28. Galli, M., Frigerio, C., Longhese, M. P., and Clerici, M. (2021) The regulation of the DNA damage response at telomeres: focus on kinases, *Biochem. Soc. Trans.*, **49**, 933-943, doi: 10.1042/BST20200856.
29. Hewitt, G., Jurk, D., Marques, F. D. M., Correia-Melo, C., Hardy, T., Gackowska, A., Anderson, R.,

- Taschuk, M., Mann, J., and Passos, J. F. (2012) Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence, *Nat. Commun.*, **708**, 1-9, doi: 10.1038/NCOMMS1708.
30. Burbano, M. S. J., and Gilson, E. (2021) The power of stress: the telo-hormesis hypothesis, *Cells*, **1156**, 1-21, doi: 10.3390/CELLS10051156.
31. Chakravarti, D., LaBella, K. A., and DePinho, R. A. (2021) Telomeres: history, health and hallmarks of aging, *Cell*, **184**, 306-322, doi: 10.1016/j.cell.2020.12.028.
32. Olovnikov, A. M. (1999) Notes on a “printomere” mechanism of cellular memory and ion regulation of chromatin configurations, *Biochemistry (Moscow)*, **64**, 1427-1435.
33. Olovnikov, A. M. (2003) The redusome hypothesis of aging and the control of biological time during individual development, *Biochemistry (Moscow)*, **68**, 2-33, doi: 10.1023/A:1022185100035.
34. Olovnikov, A. M. (2007) Role of paragenome in development, *Russ. J. Dev. Biol.*, **38**, 104-123, doi: 10.1134/S1062360407020075.
35. Dilman, V. M., Revskoy, S. Y., and Golubev, A. G. (1986) Neuroendocrine-ontogenetic mechanism of aging: toward an integrated theory of aging, *Int. Rev. Neurobiol.*, **28**, 89-156, doi: 10.1016/S0074-7742(08)60107-5.
36. Olovnikov, A. M. (1997) Towards the quantitative traits regulation: fountain theory implications in comparative and developmental biology, *Int. J. Dev. Biol.*, **41**, 923-931.
37. Olovnikov, A. (2005) Lunasensor, infradian rhythms, telomeres, and the chromomere program of aging, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1057**, 112-132, doi: 10.1196/annals.1356.006.
38. Olovnikov, A. M. (2007) Hypothesis: lifespan is regulated by chromomere DNA of the hypothalamus, *J. Alzheimer's Dis.*, **11**, 241-252, doi: 10.3233/jad-2007-11211.
39. Pierpaoli, W., Dall'ara, A., Pedrinis, E., and Regelson, W. (1991) The pineal control of aging. The effects of melatonin and pineal grafting on the survival of older mice, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **621**, 291-313, doi: 10.1111/J.1749-6632.1991.TB16987.X.
40. Pierpaoli, W. (1994) The pineal gland as ontogenetic scanner of reproduction, immunity, and aging. The aging clock, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **741**, 46-49, doi: 10.1111/J.1749-6632.1994.TB23084.X.
41. Olovnikov, A. M. (2022) Planetary metronome as a regulator of lifespan and aging rate: the metronomic hypothesis, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1640-1650, doi: 10.1134/S0006297922120197.
42. Анисимов В. Н. (2003) «Игра в бисер» для биологов или наука послезавтра? (Рецензия на статью А.М. Оловникова «Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии»), *Биохимия*, **68**, 292-298.
43. Turner, K. M., Deshpande, V., Beyter, D., Koga, T., Rusert, J., Lee, C., Li, B., Arden, K., Ren, B., Nathanson, D. A., et al. (2017) Extrachromosomal oncogene amplification drives tumour evolution and genetic heterogeneity, *Nature*, **543**, 122-125, doi: 10.1038/NATURE21356.
44. Møller, H. D., Mohiyuddin, M., Prada-Luengo, I., Sailani, M. R., Halling, J. F., Plomgaard, P., Maretty, L., Hansen, A. J., Snyder, M. P., Pilegaard, H., and Lam, H. Y. K., Regenber, B. (2018) Circular DNA elements of chromosomal origin are common in healthy human somatic tissue, *Nat. Commun.*, **1069**, 1-12, doi: 10.1038/S41467-018-03369-8.
45. Chamorro González, R., Conrad, T., Stöber, M. C., Xu, R., Giurgiu, M., Rodriguez-Fos, E., Kasack, K., Brückner, L., van Leen, E., Helmsauer, K., et al. (2023) Parallel sequencing of extrachromosomal circular DNAs and transcriptomes in single cancer cells, *Nat. Genet.*, **55**, 880-890, doi: 10.1038/S41588-023-01386-Y.
46. Olovnikov, A. M. (2022) Eco-crossover, or environmentally regulated crossing-over, and natural selection are two irreplaceable drivers of adaptive evolution: Eco-crossover hypothesis, *BioSystems*, **218**, 104706, doi: 10.1016/j.biosystems.2022.104706.
47. Olovnikov, A. M. (2009) Biological evolution based on nonrandom variability regulated by the organism, *Biochemistry (Moscow)*, **74**, 1404-1409, doi: 10.1134/S0006297909120177.
48. Olovnikov, A. M. (2013) Why do primordial germ cells migrate through an embryo and what does it mean for biological evolution? *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 1190-1199, doi: 10.1134/S0006297913100143.
49. Godden, A. M., and Immler, S. (2023) The potential role of the mobile and non-coding genomes in adaptive response, *Trends Genet.*, **39**, 5-8, doi: 10.1016/j.tig.2022.08.006.
50. Olovnikov, A. (1996) Molecular mechanism of morphogenesis: a theory of locational DNA, *Biochemistry (Moscow)*, **61**, 1948-1970.
51. Vassetzky, S. G. (2008) Gelfand's seminar, *Russ. J. Dev. Biol.*, **39**, 364, doi: 10.1134/S1062360408060076.

“IF I WERE IN NATURE’S PLACE, I WOULD DO IT LIKE THIS...”.
LIFE AND HYPOTHESES OF ALEXEY OLOVNIKOV

Review

N. I. Olovnikova¹, I. A. Olovnikov^{2*}, and A. I. Kalmykova³

¹ *National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of the Russian Federation, 125167 Moscow, Russia*

² *Biovision Ventures, Luxembourg; e-mail: ivan.olovnikov@gmail.com*

³ *Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia*

In this article, we commemorate the life and scientific journey of the brilliant gerontologist-theorist Alexey Olovnikov (1936-2022). In 1971, he published his famous “marginotomy” hypothesis, in which he predicted the replicative shortening of telomeres and its role as a counter of cell divisions and biological age of an organism. This work put forth several remarkable assumptions, including the existence of telomerase, which were confirmed two decades later. Despite this, Alexey Olovnikov moved further in his theoretical studies of aging and proposed a series of new hypotheses that seem no less exotic than the marginotomy hypothesis once appeared. Alexey Olovnikov had an extraordinary way of looking at biological problems and, in addition to aging, authored striking concepts about development, biorhythms, and evolution.

Keywords: Olovnikov, marginotomy, telomeres, aging, printomeres, chromomeres

ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ РАЗВИТИЕМ, РОСТОМ, РАЗМЕРАМИ ТЕЛА, РАЗМНОЖЕНИЕМ, СТАРЕНИЕМ И ДОЛГОЛЕТИЕМ – КОМПРОМИССЫ И ТЕМП ЖИЗНИ

Обзор

© 2023 R. Yuan^{1*}, E. Hascup², K. Hascup^{2,3}, A. Bartke¹

¹ Southern Illinois University School of Medicine,
Department of Internal Medicine, 19628 Springfield, Illinois, USA; e-mail: ryuan@siumed.edu

² Southern Illinois University School of Medicine,
Department of Medical, Microbial, Cellular Immunology and Biology, 19628 Springfield, Illinois, USA

³ Department of Neurology, Dale and Deborah Smith Center for Alzheimer's Research and Treatment,
Neuroscience Institute, Southern Illinois University School of Medicine, Springfield, Illinois, USA

Поступила в редакцию 26.07.2023

После доработки 18.10.2023

Принята к публикации 19.10.2023

Взаимосвязи между ростом, метаболизмом, воспроизводством потомства, размерами тела и процессом старения живого организма и продолжительностью его жизни изучались на протяжении десятилетий. Для объяснения наблюдаемых ассоциаций были предложены различные объединяющие «теории старения». В целом, быстрое развитие, раннее половое созревание, приводящее к ранним репродуктивным усилиям, а также рождение большого количества потомства ассоциированы с более короткой продолжительностью жизни. Связь размера тела взрослой особи и продолжительности её жизни включает в себя заметный контраст между положительной корреляцией, наблюдаемой при сравнениях между различными видами, и отрицательной корреляцией, наблюдаемой при сравнении особей одного и того же вида. В настоящей работе мы предполагаем, что продолжительность жизни и, вероятно, скорость старения связаны с «темпом жизни». Медленный темп жизни, включающий медленный рост, позднее половое созревание и небольшое количество потомства, предполагает медленное старение и долгую жизнь. Быстрый темп жизни (быстрый рост, раннее половое созревание и значительные репродуктивные усилия) ассоциируется с более быстрым старением и более короткой жизнью, предположительно из-за лежащих в их основе компромиссов. Предлагаемые взаимосвязи между темпом жизни и её продолжительностью применимы как к меж-, так и к внутривидовым сравнениям, а также к диетическим, генетическим и фармакологическим вмешательствам, которые продлевают жизнь, и к доказательствам «программирования» жизненного пути в раннем периоде жизни. Хотя имеющиеся данные свидетельствуют о существовании причинно-следственной связи для по крайней мере некоторых из этих ассоциаций, необходимы дальнейшие исследования для того, чтобы подтвердить эти предположения и выявить соответствующие механизмы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: старение, долголетие, темп жизни, компромиссы, программы развития, рост, воспроизводство, размер тела.

DOI: 10.31857/S0320972523110039, **EDN:** MOSWOS

ВВЕДЕНИЕ

Старение является частью жизненного пути почти всех живых организмов, в том числе всех людей. Это, несомненно, общеизвестный факт, и он часто служит основанием

для широко распространённого убеждения, что со старением мы ничего не можем поделать. Научные свидетельства в пользу того, что биологический процесс старения можно подвергать изменениям и что эти изменения могут способствовать укреплению здоровья и продлению жизни, были доступны на протяжении десятилетий. Однако лишь недавно эти научные данные стали постепенно включать в рамки теорий и повседневную медицинскую практику, а также в политику общественного

Принятые сокращения: GH – growth hormone, гормон роста; IGF-1 – insulin-like growth factor-1, инсулиноподобный фактор роста 1.

* Адресат для корреспонденции.

здравоохранения. В таком контексте мы считаем, что настало время рассмотреть компромиссы между развитием и старением, которые связаны с мерами по борьбе со старением, и определить механизмы, лежащие в их основе. Инновационные исследования ограничения калорийности питания на лабораторных грызунах показали, что увеличение продолжительности жизни этих животных связано с уменьшением размеров тела и подавлением фертильности. Когда молодые животные подвергались ограничению калорийности питания, скорость их роста снижалась, а половое созревание задерживалось. Сильное ограничение калорийности питания может приводить к полному подавлению репродуктивной функции, при этом принося заметные преимущества с точки зрения здоровья и долголетия. Эти и другие результаты подводят нас к вопросу о том, связаны ли различия в продолжительности жизни представителей разных биологических видов, а также особей одного и того же вида со сходными компромиссами (а возможно, и существуют благодаря им). В этой статье мы кратко рассмотрим взаимосвязи между половым созреванием и размножением, а также соматическим ростом, размером тела взрослой особи и долголетием. Кроме того, мы обсудим роль гормона роста (GH, growth hormone) и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1, insulin-like growth factor 1), ключевых регуляторов роста, созревания и размера тела взрослого организма, в контроле старения млекопитающих и взаимосвязях между «темпом жизни», биологическим процессом старения и программами развития живого организма. Наконец, мы также обсудим некоторые клеточные и молекулярные механизмы, которые могут объяснить наблюдаемые ассоциации и компромиссы.

РАЗМЕР ТЕЛА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ: БОЛЬШИЕ МЫШИ УМИРАЮТ МОЛОДЫМИ. НО БОЛЕЕ КРУПНЫЕ МЛЕКОПИТАЮЩИЕ ЖИВУТ НАМНОГО ДОЛЬШЕ МЫШЕЙ

У млекопитающих взаимосвязи между размером тела взрослой особи и продолжительностью жизни носят очень сложный характер. В целом, более крупные виды живут дольше, а самым долгоживущим млекопитающим является огромный гренландский кит. Положительная корреляция между размером тела взрослой особи и максимальной продолжительностью жизни у всех видов млекопитающих хорошо

документирована, и она поразительна [1]. Однако есть важные исключения. Многие виды летучих мышей живут намного дольше, чем грызуны сходных размеров или землеройки [2]. Ещё одним удивительным примером повышенного долголетия является голый землекоп (*Heterocephalus glaber*). Несмотря на то что голые землекопы по размеру тела схожи с лабораторными мышами, в контролируемых лабораторных условиях они живут примерно в десять раз дольше [3]. Если рассмотреть млекопитающих, то приматы живут дольше, чем можно было бы предположить в соответствии с размерами их тела, и наш собственный вид является наиболее ярким примером. Средняя продолжительность жизни человека намного превышает таковую для гораздо более крупных жвачных и непарнокопытных, а документально подтверждённая максимальная продолжительность жизни человека (122 года) [4] превышает продолжительность жизни слонов.

Долгую жизнь крупных животных связывают со снижением риска их смертности от внешних условий, особенно смертности от хищников. Увеличение продолжительности жизни сопряжено с приобретением в процессе эволюции физиологических характеристик и репродуктивных стратегий, которые благоприятствуют долгому выживанию или совместимы с ним. Мы обсудим эти ассоциации ниже. Механически крайние значения продолжительности жизни связаны с молекулярными и клеточными механизмами защиты от рака (слоны) [5] и способностью восстанавливать повреждённую ДНК (гренландские киты) [6]. Увеличение продолжительности жизни летучих мышей, голых землекопов и приматов в прошлом связывали со снижением риска нападения хищников на животных, способных летать или жить под землёй, а также с защитой от многочисленных внешних причин смертности за счёт социальной организации в сочетании с интеллектом [2, 7]. Кроме того, исключительно долгую продолжительность жизни голых землекопов объясняют не только их специализированным подземным образом жизни, но и сопутствующей замечательной способностью переносить гипоксию и процветать в средах с ограниченным доступом кислорода, что может привести к снижению уровня окислительных повреждений [8].

В отличие от положительной корреляции размера тела и продолжительности жизни, наблюдаемой в ходе сравнения представителей различных видов млекопитающих, также имеются многочисленные примеры того, что более мелкие, а не более крупные особи одного

и того же вида живут дольше [9, 10]. Это особенно ярко и убедительно показано на лабораторных популяциях домашних мышей и домашних собак [11, 12]. Сравнение продолжительности жизни мышей из разных инбредных линий или линий, отобранных по различиям скорости роста и/или размеров тела взрослых особей [13–15], а также сравнения отдельных мышей из генетически гетерогенной популяции [11] последовательно показывают отрицательную корреляцию между размерами тела взрослых особей и их продолжительностью жизни. Более того, было показано, что мутации, вызывающие карликовость, также приводят к значительному увеличению продолжительности жизни. Мыши с гомозиготными аллелями таких мутаций могут жить на 50% дольше, чем генетически нормальные животные (дикого типа), рождённые в том же помёте и содержащиеся в идентичных условиях с точки зрения питания и факторов окружающей среды [16, 17].

Сравнение различных пород домашних собак или отдельных собак, различающихся по размеру, последовательно показывает отрицательную корреляцию между массой тела взрослой особи и продолжительностью жизни [12]. Собаки очень маленьких размеров обычно живут более 15 лет, тогда как собаки самых крупных пород вряд ли доживут до 10-летнего возраста [10, 18]. Подобные отрицательные связи размера тела и продолжительности жизни также были описаны у лабораторных крыс [19] и одомашненных лошадей [20], а также в различных популяциях человека [21]. Кроме того, было показано, что медицинские вмешательства, продлевающие продолжительность жизни, такие как лечение рапамицином в раннем возрасте, сопровождаются уменьшением размеров тела [22, 23]. Однако интерпретация данных о связи роста человека с продолжительностью жизни осложняется ролью социально-экономического статуса, питания в раннем возрасте, наличия доступа к медицинской помощи, прогресса в медицине и множества стратегий общественного здравоохранения. Следовательно, существование отрицательной корреляции между ростом человека и ожидаемой продолжительностью жизни не является общепринятым фактом и часто является предметом дискуссий [24]. Эта тема обсуждалась нами более подробно в предыдущих публикациях [25, 26].

Заслуживает внимания тот факт, что связь скорости роста и развития (ключевого элемента темпа жизни) со старением и продолжительностью жизни существенно отличается от

связи размера тела взрослой особи с теми же особенностями жизненного пути. Так, более медленный рост ассоциирован с более медленным старением и продолжительностью жизни. Это выявляется при проведении как межвидового, так и внутривидового сравнения. В то же время только при сравнении особей одного и того же вида взрослые особи меньших размеров живут дольше, чем более крупные особи. Трудно найти объяснение этому парадоксу противоположных взаимосвязей. В одной работе было показано, что уровни циркулирующего IGF-1, ключевого медиатора стимулирующего действия GH гипофиза на соматический рост, у более крупных по размерам видов неожиданно ниже, чем у мелких видов [27]. Это контрастирует с положительной корреляцией между уровнями IGF-1 и размером тела внутри одного вида [28]. Как будет отмечено далее в этой статье, мы предпочитаем другое объяснение, а именно: роль скорости роста, развития и созревания (в сочетании с продолжительностью роста и другими фенотипическими характеристиками) в программировании процесса старения и долголетия. Естественно, эти объяснения не являются взаимоисключающими, и могут быть задействованы также и другие механизмы. Например, различия в продолжительности жизни особей как одного вида, так и различных видов можно объяснить такими факторами, как динамика деления и роста клеток [29], состав клеточных мембран [30], повреждение и репарация молекул ДНК [31], а также укорочение теломера и теломеразная активность [32]. Эти механизмы, вероятно, взаимодействуют друг с другом. Кроме того, вполне вероятно, что корреляция между размером тела и продолжительностью жизни не подразумевает существование причинно-следственной связи. Вместо этого на оба эти фактора может влиять общий фактор, потенциально являющийся одним из «столпов» или «отличительных признаков» старения, что обсуждается в антагонистической плейотропной теории [33] или теории гиперфункции [34].

Медленные темпы роста могут также влиять на старение и продолжительность жизни, оказывая влияние на развитие мозга [35]. В предыдущей работе были проанализированы 493 вида млекопитающих, от грызунов до китообразных. В результате была выявлена убедительная связь: млекопитающие с более крупным мозгом по сравнению с размером тела, как правило, имеют более длительную продолжительность жизни и репродуктивный период [36]. Это наблюдение вызывает интерес

с учётом того, что более крупный мозг требует метаболических затрат и длительных фаз развития. Следовательно, естественный отбор должен благоприятствовать эволюции более крупного мозга только в том случае, если он предлагает компенсаторные преимущества. Одним из таких преимуществ является облегчение адаптивного ответа на новые или сложные социально-экологические проблемы. Эта концепция была воплощена в гипотезе «когнитивного буфера» (CBH, cognitive buffer hypothesis) [37]. Согласно этой гипотезе, более крупный мозг усиливает поведенческую адаптивность в ответ на изменяющиеся условия окружающей среды, упрощает процесс обучения и даёт видам возможность эффективно преодолевать экологические препятствия. Кроме того, эта адаптивность способствует формированию стабильных социальных групп, что соответствует гипотезе социального интеллекта (SIH, social intelligence hypothesis), которая предполагает, что виды, живущие в таких группах, сталкиваются с повышенными когнитивными потребностями, и это требует наличия более крупного мозга, чтобы справиться с тонкостями групповой жизни [38]. Действительно, стабильные социальные группы дают преимущества, включая совместную защиту, разделение ресурсов, совместную родительскую заботу и повышение репродуктивного успеха за счёт повышения выживаемости отдельных особей и потомства. Интересно, что социальная структура может играть решающую роль в формировании взаимосвязи между размером тела, воспроизводством и продолжительностью жизни. Это очевидно у эусоциальных насекомых, таких как муравьи и пчёлы, а также у млекопитающих, таких как голый землекоп. У этих видов самки в репродуктивной фазе жизни часто имеют существенно более крупные размеры тела, но живут значительно дольше, чем другие члены их сообществ. Таким образом, у этих животных увеличение репродуктивных возможностей ассоциировано с увеличением, а не уменьшением продолжительности жизни.

ГОРМОНАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ РОСТА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ: РОЛЬ ГОРМОНА РОСТА ГИПОФИЗА В ПРОЦЕССЕ КОНТРОЛЯ СТАРЕНИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Прошло более 25 лет с тех пор, как мы предположили, что ГН играет важную роль в контроле старения млекопитающих. Наше предположение было основано на исследова-

ниях трансгенных по ГН мышей и мышей с наследственной карликовостью. Мы показали, что гигантские трансгенные мышцы обладают многочисленными фенотипическими характеристиками, напоминающими старение [39], и подтвердили, что продолжительность жизни этих животных намного короче, чем у их нормальных братьев и сестёр [40]. Мы также показали, что продолжительность жизни мышей *Prop1^{df}* (карликовые мыши Ames), у которых наблюдается дефицит нескольких аденогипофизарных гормонов, включая ГН, значительно увеличивается [17]. Эти результаты подразумевают, что поддержание нормального уровня ГН-зависимой передачи сигналов влечёт за собой «издержки» с точки зрения продолжительности жизни, и что неограниченный доступ к ГН приводит к ускоренному старению. Доказательства роли ГН в контроле старения были значительно подкреплены последующей демонстрацией того, что изолированный дефицит ГН в результате делеции гормона, высвобождающего гормон роста (GHRH, growth hormone releasing hormone), который является ключевым гипоталамическим регулятором биосинтеза и секреции ГН [41], или мутации в гене рецептора GHRH (GHRHR, growth hormone releasing hormone) [42], а также делеция гена рецептора гормона роста (GHR, growth hormone receptor) [43] приводят к заметному увеличению продолжительности жизни мышей. Другими словами, ингибирования синтеза ГН или блокады его действия достаточно для увеличения продолжительности жизни. Эти исследования также показали, что продление жизни в отсутствие ГН-зависимой передачи сигналов является высоковоспроизводимым открытием и не ограничивается конкретной мутацией, генетическим фоном животных или условиями их содержания в конкретной лаборатории. Этот момент заслуживает особого внимания, поскольку в одной более ранней работе было показано сокращение, а не увеличение продолжительности жизни мышей с наследственной карликовостью [44]. В настоящее время считается, что такие результаты были вызваны условиями содержания и проблемами со здоровьем животных в соответствующей лаборатории [45–47].

Следует отметить, что в результате дополнительных исследований карликовых мышей Ames были получены доказательства того, что связь между недостаточностью ГН и большой продолжительностью жизни этих животных является причинно-следственной. Шесть недель заместительной терапии с использованием ГН, начатой в возрасте одной или двух

недель, привели к значительному сокращению продолжительности жизни этих животных [48]. Более того, большинство фенотипических характеристик, которые отличают карликовых мышей Ames от нормальных мышей (дикого типа) и, как полагают, представляют собой механизмы и/или маркеры их более медленного старения и увеличения продолжительности жизни, было полностью или почти полностью нормализовано («спасено») вследствие применения такого режима замещения ГН [48–50]. Механизмы, с помощью которых применение ГН в раннем возрасте изменяет фенотип и продолжительность жизни взрослых особей, почти наверняка являются эпигенетическими и включают модификации гистонов [51].

Значительное влияние дефицита ГН, резистентности к нему и избытка этого гормона на продолжительность жизни лабораторных мышей вызвало множество вопросов о применимости этих результатов к другим видам, особенно к людям [52]. Патологический избыток ГН при акромегалии и гигантизме снижает продолжительность жизни человека [53, 54], что повторяет результаты, полученные у гигантских трансгенных по ГН мышей [55, 56]. Более того, многие симптомы этих состояний, включая повышенный риск диабета, сердечно-сосудистых заболеваний и некоторых видов рака, напоминают симптомы нормального старения. Однако в отличие от результатов, полученных на различных типах карликовых мышей, люди с изолированным дефицитом гормона роста (IGHD, isolated growth hormone deficiency) или резистентностью к ГН (синдром Ларона) не живут дольше [57, 58], а в одной человеческой популяции с наследственным IGHD было зарегистрировано снижение продолжительности жизни [59]. Интересно, что хотя продолжительность жизни не увеличивается из-за генетических синдромов, которые блокируют ГН-зависимую передачу сигналов, люди с резистентностью к ГН или его дефицитом в значительной степени защищены от хронических заболеваний, связанных со старением, включая рак, диабет и атеросклероз. У них также наблюдается улучшение в поддержании различных физиологических функций в пожилом возрасте [60]. По крайней мере, одна популяция людей с IGHD, по-видимому, с большей вероятностью достигает исключительного долголетия [61]. Что касается средних значений продолжительности жизни, то защитное влияние дефицита ГН или резистентности к нему, по-видимому, уравновешивается повышенным риском ранней смертности, особенно

смертей, связанных с несчастными случаями и злоупотреблением алкоголем [25, 60]. Повышенные шансы дожить до глубокой старости были зарегистрированы также у «маленьких людей с острова Крк», популяции людей с дефицитом ГН, вызванным мутацией гена *Prop1*, того же самого гена, который мутировал у долгоживущих карликовых мышей Ames [57].

В ряде недавних работ и текущих исследований рассматривалась возможная роль изменений в пределах нормального диапазона ГН- и IGF-1-зависимой передачи сигналов в контроле старения человека. Было показано, что потомки семей долгожителей, выявленных в рамках Лейденского исследования долголетия [62], демонстрируют несколько благоприятных показателей здоровья по сравнению со своими партнёрами. В их числе – снижение частоты возникновения диабета, гипертонии и гиперхолестеринемии, снижение риска возникновения других распространённых возрастных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые (например, ишемическая болезнь сердца, сердечная недостаточность и инсульт), нейродегенеративные (например, болезни Альцгеймера и Паркинсона), остеопороз, хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ), артрит, возрастная макулярная дегенерация, заболевания почек, возрастная потеря слуха и другие состояния, которые обычно ассоциируются со старением [63–68]. Важно отметить, что для потомства таких долгожителей также характерна более низкая смертность по сравнению со своими партнёрами [69]. Кроме того, было показано, что у этих людей снижена скорость секреции ГН и осуществляется более «жёсткий» контроль этого процесса [62, 70]. Эти данные свидетельствуют о том, что нормальный уровень ГН-зависимой передачи сигналов так же ускоряет старение у людей, как и у лабораторных домашних мышей, и что более низкие уровни ГН полезны для здоровья и продолжительности жизни. Конечно, трудно исключить альтернативные интерпретации, такие как существование корегуляторов, влияющих как на секрецию ГН, так и на процесс старения.

Во многих работах было рассмотрено возможное участие IGF-1 в IGF/инсулин-зависимой передаче сигналов в процессе старения человека. Была показана как положительная, так и отрицательная связь этого белка с долголетием. Подробный анализ этого сложного набора наблюдений выходит за рамки этой краткой статьи. Тем не менее мы хотели бы отметить, что вероятная причина расхождений результатов различных исследований была недавно изложена Zhang et al. Авторы проанализировали

уровни IGF-1, смертности и заболеваний, связанных со старением, включая деменцию, диабет, рак, сосудистые заболевания и остеопороз, у более 400 000 человек в возрасте от 30 до 80 лет [71]. Результаты свидетельствуют о том, что IGF-1 является нелинейным предиктором риска. Он в сочетании с возрастом изменяет риск развития различных клинических событий. В частности, у молодых людей с высоким уровнем IGF-1 наблюдался защитный эффект против заболеваний, тогда как пожилые люди с повышенным уровнем IGF-1 подвергались повышенному риску развития заболеваний или смертности [71]. Кроме того, связь между уровнем IGF-1 и риском заболевания имеет U-образную форму, указывая на то, что чрезмерно высокие и низкие уровни IGF-1 могут оказывать отрицательное влияние на восприимчивость к заболеваниям [71].

С использованием 32 инбредных линий мышей был проведён комплексный метаанализ сложного влияния IGF-1 на процесс старения, включая различные генетические варианты, половые различия и взаимодействие между IGF-1 и возрастом [72–74]. Эти линии представляют основное разнообразие генома *Mus musculus*, обеспечивая богатый источник генетических вариантов, разнообразие которого на один-два порядка превышает таковое для последовательностей, наблюдаемых в человеческих популяциях [75]. Результаты работы продемонстрировали связь между более низкими уровнями IGF-1 и увеличенной средней продолжительностью жизни у инбредных линий мышей [72]. Однако при сопоставлении уровней IGF-1 и продолжительности жизни была выявлена корреляция, специфичная для пола животного [74]. У самок более низкие уровни IGF-1 были ассоциированы с повышенным риском смерти в молодом возрасте (< 180 дней). При этом наблюдалось повышение максимальной продолжительности жизни, что давало и большие вариации продолжительности жизни. У самцов существенные изменения риска ранней смерти выявлены не были, однако более высокие уровни IGF-1 были ассоциированы с увеличением максимальной продолжительности жизни. Следовательно, у самцов более высокий уровень IGF-1 связан с повышенными вариациями продолжительности жизни [74]. Следует отметить работу, в которой было изучено влияние введения в организм самцов и самок мышей, достигших зрелого возраста (18 месяцев), антител против рецептора IGF-1 (IGF1R). Для самок мышей это воздействие повысило продолжительность жизни в здоровом состоянии и привело

к 9%-ному увеличению средней продолжительности жизни, а также к уменьшению количества новообразований и воспалений. При этом у мышей-самцов существенных изменений не наблюдалось [76]. Эти результаты ещё раз подчёркивают влияние IGF-1 на старение в зависимости от пола и указывают на важность учёта временного окна для оказания воздействия на IGF-1-зависимую передачу сигналов с целью увеличения продолжительности жизни. В частности, это поднимает интригующие вопросы о том, может ли повышение уровня IGF-1 в пожилом возрасте потенциально продлить максимальную продолжительность жизни мужчин.

РЕПРОДУКТИВНОЕ РАЗВИТИЕ, ВОЗРАСТ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ И СТАРЕНИЕ. КОМПРОМИССЫ И РАЗЛИЧНЫЕ ЖИЗНЕННЫЕ ИСТОРИИ

Сравнение репродуктивных усилий короткоживущих и долгоживущих видов млекопитающих выявило серьёзные различия, которые предполагают наличие компромиссов. Для не долгоживущих млекопитающих характерен короткий период полового созревания и беременности, большие помёты и раннее прекращение грудного вскармливания, что связано с короткими интервалами между помётами. Например, мыши и другие мелкие грызуны могут достигать половой зрелости менее чем за два месяца и производить потомство в количестве 10–12 детёнышей с интервалом в один-два месяца. Напротив, крупные долгоживущие виды обычно демонстрируют противоположные репродуктивные характеристики: позднее половое созревание, рождение одного детёныша или очень маленького помёта, а также длительный период вскармливания. Например, жвачные и непарнокопытные (в том числе одомашненные коровы, овцы и лошади) могут не достичь половой зрелости в год своего рождения, иметь продолжительность беременности от нескольких до 11 месяцев, производить одного или, реже, двух потомков один раз в год и выкармливать их в течение нескольких месяцев. Домашние собаки демонстрируют очень большие различия в продолжительности жизни при сравнении мелких и крупных пород, а также между животными смешанных пород, различающимися по размеру тела (подробности и ссылки ранее в этой статье). Vargas-Gallaraga et al. недавно сообщили, что вклад в воспроизводство потомства негативно влияет на продолжительность жизни этого

вида, и что эту взаимосвязь нельзя объяснить корреляцией репродуктивных усилий и продолжительности жизни с размером тела [77]. Замечательное исследование жизненного пути более семи тысяч самок южных морских слонов в их естественной среде обитания выявило корреляцию между возрастом рождения первого детёныша и началом актуарного старения (определяемую как увеличение смертности с возрастом) [78]. Однако с точки зрения выживаемости и чистого репродуктивного результата самки, рано давшие потомство, превзошли в популяции тех, у которых детёныши появились позднее [78]. По-видимому, различия в индивидуальных способностях справляться с трудностями раннего возраста могут перевесить последствия компромисса между репродуктивными показателями и долголетием.

Доказательства компромисса между воспроизводством и долголетием были получены в исследованиях ограничения калорийности питания (CR, calorie restriction) [79] и в исследованиях, в которых варьировали состав макроэлементов пищевого рациона (в первую очередь относительное содержание белков и углеводов) [80, 81], или же этот состав определялся выбором самих подопытных животных [82, 83]. В целом, более высокое потребление калорий и белка способствовало воспроизводству потомства, но не выживанию [83]. CR может значительно увеличить продолжительность жизни большинства исследованных популяций лабораторных грызунов и может блокировать или задерживать половое созревание и приводить к бесплодию или уменьшению размера помёта и увеличению интервалов между помётами [84]. Однако эти компромиссы были тонкими и зависели от конкретных особенностей исследования. Конкретные результаты зависят от вида (например, крысы или мыши), возраста животного, в котором начинается CR, и процента снижения потребления пищи [84]. Сообщалось, что CR, помимо подавления репродуктивной функции, также вызывает замедление репродуктивного старения и повышение возраста, в котором репродуктивная функция может быть «повторно пробуждена» в результате возобновления нормального питания [85]. Задержка полового созревания, уменьшение размера помёта и увеличение интервалов между помётами, а также различные признаки задержки репродуктивного старения в сочетании со значительным увеличением продолжительности жизни наблюдались также у мышей с наследственной карликовостью [86].

Следует особо подчеркнуть связь возраста полового созревания со старением и долго-

летием. Ассоциация более раннего полового созревания с более короткой продолжительностью жизни видна при проведении сравнения как различных видов, так и особей внутри конкретного вида. Важно отметить, что возраст полового созревания у короткоживущих животных является ранним не только хронологически, но и относительно средней продолжительности жизни. Например, лабораторные мыши достигают половой зрелости в возрасте от трёх до шести недель, что составляет примерно 3–5% от их средней продолжительности жизни, тогда как люди обычно достигают половой зрелости в возрасте 12–15 лет, что соответствует 15–19% от средней продолжительности жизни. Корреляция между возрастом полового созревания и продолжительностью жизни также была обнаружена при сравнении особей или когорт (например, разных линий или пород) внутри одного и того же вида [73].

Учитывая устойчивую корреляцию, наблюдаемую между возрастом полового созревания и продолжительностью жизни, а также сложную связь между размером тела, старением и продолжительностью жизни, возникает интригующий вопрос: может ли замедление репродуктивного развития при сохранении соматического роста привести к задержке старения и увеличению продолжительности жизни? Ответ на этот вопрос является сложной задачей из-за тесно скоординированного контроля между соматическим ростом и репродуктивным развитием. Интересно, что наше недавнее исследование с участием гетерогенных мышей UM-НЕТ3, которым в раннем возрасте (15–56 дней) вводили метформин, показало, что хотя метформин увеличивал уровень циркулирующего IGF-1 и размер тела, он значительно задерживал половое созревание самок [87]. Это означает, что введение метформина потенциально может разделить регуляторные пути, контролирующие соматическое и репродуктивное развитие. Основным механизмом этого эффекта может быть связан с молекулярной функцией метформина, выражающийся в повышении активности АМР-активируемой протеинкиназы (АМРК, AMP activated protein kinase) [88]. Размножение млекопитающих – это энергозатратный процесс, происходящий при адекватном питании [89]. АМРК – это датчик количества питательных веществ, который активируется при уменьшении соотношения АТФ/АМР или голодании. Активированная АМРК выключает пути потребления АТФ, такие как синтез белка, липогенез и глюконеогенез, и включает пути генерации АТФ,

такие как окисление жирных кислот, гликолиз и аутофагия [90]. У млекопитающих активированная АМПК на молекулярном уровне ингибирует протеинкиназу, называемую «мишень рапамицина млекопитающих» (mTOR, mammalian target of rapamycin), путём прямого фосфорилирования опухолевого супрессора комплекса туберозного склероза 2 (tumor suppressor tuberous sclerosis complex 2, TSC2) и белка, ассоциированного с регуляцией mTOR (RAPTOR, regulatory-associated protein of mTOR) [91]. Повышение уровня mTOR-зависимой передачи сигналов может значительно ускорить половое созревание самок и повысить их фертильность [92]. Важно отметить: недавно было показано, что ингибирование рапамицином mTOR-зависимой передачи сигнала подавляет репродуктивную функцию, а также увеличивает период жизни в здоровом состоянии и в целом продолжительность жизни [22, 23]. Сложные взаимосвязи между размножением, размером тела и старением до сих пор остаются не раскрытыми. Понимание роли АМПК- и mTOR-зависимой передачи сигналов в совместной регуляции процессов развития и старения представляет большой интерес. Обсуждение лежащих в основе эволюционных процессов и недавний обзор этой области исследований см. в работах Kozlowski et al., Tatar et al. и White et al. [93–95].

ПРОГРАММИРОВАНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ВЗРОСЛОГО ОРГАНИЗМА НА РАННИХ ПЕРИОДАХ ЖИЗНИ. МОЖЕТ ЛИ ЗАМЕДЛЕНИЕ ТЕМПА ЖИЗНИ ПРИВЕСТИ К УВЕЛИЧЕНИЮ ЕЁ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ?

Интерес к роли событий, происходящих в раннем возрасте, в программировании дальнейшей жизни возник по крайней мере 64 года назад с выходом новаторской работы Waddington по «канализации» развития [96]. Эти исследования заложили основу современного понимания эпигенетических явлений и механизмов индукции фенотипических факторами окружающей среды. Исследования влияния голодания во время беременности на риск возникновения сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний у потомства во взрослом состоянии привели к появлению прочно обоснованной концепции «Истоки здоровья и болезней в процессе развития» (DOHaD, Developmental Origins of Health and Disease) [97]. Хотя большинство исследований, созвучных этой концепции, затрагивали

пагубные последствия голодания, недоедания, токсических веществ и стресса во время беременности, также были получены убедительные доказательства того, что воздействие окружающей среды, имевшее место в детском и подростковом возрасте, может иметь долгосрочные последствия для здоровья человека, включая и риск возникновения хронических заболеваний [98, 99]. Основываясь на этих выводах, можно предположить, что события раннего возраста могут определять темп жизни и ассоциированные с ним компромиссы, такие как распределение доступных ресурсов между воспроизводством потомства и процессами, способствующими долголетию.

Наши исследования влияния заместительной терапии ГН на продолжительность жизни долгоживущих карликовых мышей Ames, для которых характерен дефицит ГН, предоставили дополнительные данные в поддержку идеи программирования старения и долголетия на раннем этапе жизни [48]. В этой работе карликовым животным в возрасте одной или двух недель на протяжении шести недель вводили ГН. Это вызывало ожидаемое ускорение роста животных во время введения гормона и увеличение массы тела взрослой особи до значений, приблизительно промежуточных между массой контрольных (им вводили носитель гормона) карликов и их нормальных братьев и сестёр (мыши дикого типа). Как упоминалось ранее в этой статье, различные фенотипические характеристики, связанные с «отличительными признаками» («столпами») старения, включая маркеры глиоза головного мозга, инсулин плазмы крови, адипонектин, кетоновые тела и липидные профили, измеренные примерно через год или даже позже после завершения терапии ГН, полностью (или почти полностью) приходили в норму. Они больше не отличались от значений, измеренных у контрольных животных дикого типа, получавших физиологический раствор [48–50]. Более того, поразительная продолжительность жизни этих мышей была значительно снижена в результате шести недель введения ГН в раннем возрасте [48]. По-видимому, это эндокринное вмешательство в раннем возрасте привело к долгосрочным, вероятно, необратимым физиологическим изменениям, отражающим глубокие изменения в жизненном пути (и/или способствующим им). Механизмы, лежащие в основе этого явления, почти наверняка связаны с эпигенетикой. Согласно имеющимся на сегодняшний день данным, можно предположить, что они включают модификации гистонов [51].

ТЕМП ЖИЗНИ И СТАРЕНИЕ. СВЯЗЬ РАННЕГО РОСТА И РАННИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ УСИЛИЙ С ДОЛГОЛЕТИЕМ

В предыдущих разделах этой статьи мы обсудили доказательства роли компромиссов роста, созревания и размножения в контроле старения, а также участие GH и IGF-1 в обеспечении этих компромиссов. Также были упомянуты парадоксальные различия между отношением размера тела взрослой особи и продолжительностью жизни при сравнении особей между видами и внутри них. Картина, которая вытекает из имеющихся данных, согласуется с концепцией программирования старения в процессе развития, которая подтверждается многими экспериментальными данными, а также теоретическими соображениями [96, 100–104]. В частности, в исследованиях, проведённых на мышах [105], собаках [106] и с участием людей [107, 108], более быстрый ранний рост и большая масса тела молодых особей были ассоциированы с более высокой заболеваемостью и смертностью. На лабораторных мышах было показано, что фармакологические вмешательства, влияющие на ранний соматический рост, оказывают большое влияние на продолжительность жизни животных. Шиндяпина и коллеги показали, что введение рапамицина генетически разнообразным мышам UMNET3 в течение первых 45 дней постнатальной жизни приводило к снижению скорости их роста и увеличению продолжительности жизни (средней), а также, что важно, продолжительности жизни в здоровом состоянии [22]. Как упоминалось ранее, относительно короткий период введения GH в раннем возрасте ускорял рост и снижал продолжительность жизни у карликовых мышей Ames [48]. Также увеличение продолжительности жизни при действии рапамицина в раннем возрасте было достигнуто у мелкого (планктонного) ракообразного (дафния) и у плодовой мушки дрозофилы [22, 23]. Как и в случае с ранним темпом роста, раннее половое созревание отрицательно связано с продолжительностью жизни в различных исследованиях [73].

Что, по нашему мнению, заслуживает особого внимания, так это то, что взаимная связь между продолжительностью жизни и ключевыми элементами темпа жизни, а именно: ростом, созреванием и репродуктивными усилиями, наблюдается при сравнениях между различными видами млекопитающих, а также между различными линиями, породами и особями внутри одного вида. Это резко контрастирует

со связью между продолжительностью жизни и размером тела взрослой особи, которая в этих сравнениях скорее обратная, чем прямая. Интересно, что различия в темпе жизни коррелируют с различиями в продолжительности жизни и у людей очень низкого роста. Таким образом, низкий рост, обусловленный изолированным дефицитом GH в когорте Itabaianinha (Итабаянинья, Бразилия) или резистентностью к GH, связан с медленным темпом жизни (медленный рост, задержка полового созревания и снижение фертильности), защитой от различных возрастных заболеваний и состояний, приводящих к «здоровому старению», а также с нормальной продолжительностью жизни [25, 109]. В то же время низкий рост в различных популяциях пигмеев ассоциирован с быстрым темпом жизни (быстрое развитие и ранний возраст первой беременности) и очень короткой продолжительностью жизни [110]. Особенно ярким примером взаимной связи между темпом и продолжительностью жизни является африканская рыба нотобранх Фурцера (*Nothobranchius furzeri*), обитающая в эфемерных водоёмах. Икринки этих замечательных животных выживают в почве после высыхания прудов, и мальки рыб вылупляются в тот момент, когда пруд восстанавливается к следующему сезону дождей. Молодые рыбы развиваются со скоростью, которую называют «взрывной», быстро размножаются и стареют, что приводит к тому, что средняя продолжительность их жизни составляет от четырёх до шести месяцев, являясь самой короткой среди всех позвоночных [111]. Важно отметить, что быстрое старение и ранняя гибель наблюдаются и у содержащихся в неволе рыб этого вида, в аквариумах, которые, разумеется, сезонно не пересыхают, а рыбы обеспечены надёжным запасом пищи [112]. Это указывает на генетическую приспособленность вида к его естественной среде обитания.

В определении темпа жизни обычно входит скорость основного обмена, а медленный обмен веществ часто связан с задержкой старения. Однако продолжительность жизни определяется не просто скоростью обмена веществ. Наиболее ярким примером этого являются сравнение показателей млекопитающих и птиц. У птиц скорость метаболизма выше, чем у млекопитающих того же размера, но они живут дольше, а не меньше. Это может быть связано со снижением внешней смертности организмов, которые, летая, могут избегать хищников и других рисков окружающей среды [113, 114]. Интересно, что среднесуточная скорость метаболизма, измеряемая потреблением кислорода на единицу массы тела, у долгоживущих мышей

с генетически обусловленным дефицитом GH или резистентных к нему, увеличивается, а не снижается [115]. Анализ и интерпретация данных энергетического метаболизма осложняются различиями между скоростью основного метаболизма, скоростью метаболизма в состоянии покоя и расходом энергии или скоростью «полевого» метаболизма, а также разными способами представления биоэнергетических данных. Мы рассматривали эти сложные вопросы в более ранних публикациях [116–118].

Чтобы понять компромиссы между размером тела, воспроизводством, старением и долголетием, необходимы дальнейшие исследования, которые позволят понять основные механизмы и то, что они значат для здоровья человека и старения. Включение этих знаний в медицинскую практику и политику общественного здравоохранения может способствовать укреплению здоровья и увеличению продолжительности жизни в будущем.

Вклад авторов. Rong Yuan и Andrzej Bartke являются авторами идеи рукописи. Rong Yuan

и Andrzej Bartke написали рукопись при участии всех авторов. Erin Hascup и Kevin Hascup отредактировали рукопись и участвовали в её обсуждении.

Благодарности. Приносим извинения тем, чьи работы по обсуждаемым в статье вопросам не были процитированы из-за ограничений формата или их непреднамеренного пропуска. Мы благодарны Лизе Хенсли за редакционную помощь.

Финансирование. Эта работа была поддержана Инициативой исследований гериатрии на медицинском факультете SIU (AB) и Национальными институтами здравоохранения (гранты R01 AG057767, R01 AG061937), Центром исследований и лечения болезни Альцгеймера Дейла и Деборы Смит, а также Фондом Кеннета Старка (ERN и КН).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Данная статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных, выполненных кем-либо из авторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Speakman, J. R. (2005) Body size, energy metabolism and lifespan, *J. Exp. Biol.*, **208**, 1717-1730, doi: 10.1242/jeb.01556.
2. Brunet-Rossinni, A. K., and Austad, S. N. (2004) Ageing studies on bats: a review, *Biogerontology*, **5**, 211-222, doi: 10.1023/B:BGEN.0000038022.65024.d8.
3. Ruby, J. G., Smith, M., and Buffenstein, R. (2018) Naked mole-rat mortality rates defy gompertzian laws by not increasing with age, *Elife*, **7**, e31157, doi: 10.7554/eLife.31157.
4. Santrock, J. (2007) Life Expectancy, in *A topical Approach to: Lifespan Development*, The McGraw-Hill Companies, Inc, New York. pp 128-132.
5. Abegglen, L. M., Caulin, A. F., Chan, A., Lee, K., Robinson, R., Campbell, M. S., Kiso, W. K., Schmitt, D. L., Waddell, P. J., Bhaskara, S., Jensen, S. T., Maley, C. C., and Schiffman, J. D. (2015) Potential mechanisms for cancer resistance in elephants and comparative cellular response to DNA damage in humans, *JAMA*, **314**, 1850-1860, doi: 10.1001/jama.2015.13134.
6. Keane, M., Semeiks, J., Webb, A. E., Li, Y. I., Quesada, V., Craig, T., Madsen, L. B., van Dam, S., Brawand, D., Marques, P. I., Michalak, P., Kang, L., Bhak, J., Yim, H. S., Grishin, N. V., Nielsen, N. H., Heide-Jorgensen, M. P., Oziolor, E. M., Matson, C. W., Church, G. M., et al. (2015) Insights into the evolution of longevity from the bowhead whale genome, *Cell Rep.*, **10**, 112-122, doi: 10.1016/j.celrep.2014.12.008.
7. Buffenstein, R. (2005) The naked mole-rat: a new long-living model for human aging research, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **60**, 1369-1377, doi: 10.1093/gerona/60.11.1369.
8. Park, T. J., Smith, E. S. J., Reznick, J., Bennett, N. C., Applegate, D. T., Larson, J., and Lewin, G. R. (2021) African naked mole-rats demonstrate extreme tolerance to hypoxia and hypercapnia, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1319**, 255-269, doi: 10.1007/978-3-030-65943-1_9.
9. Bartke, A., Sun, L. Y., and Longo, V. (2013) Somatotrophic signaling: trade-offs between growth, reproductive development, and longevity, *Physiol. Rev.*, **93**, 571-598, doi: 10.1152/physrev.00006.2012.
10. Greer, K. A., Canterberry, S. C., and Murphy, K. E. (2007) Statistical analysis regarding the effects of height and weight on life span of the domestic dog, *Res. Vet. Sci.*, **82**, 208-214, doi: 10.1016/j.rvsc.2006.06.005.
11. Miller, R. A., Harper, J. M., Galecki, A., and Burke, D. T. (2002) Big mice die young: early life body weight predicts longevity in genetically heterogeneous mice, *Ageing Cell*, **1**, 22-29, doi: 10.1046/j.1474-9728.2002.00006.x.
12. Kraus, C., Pavard, S., and Promislow, D. E. (2013) The size-life span trade-off decomposed: why large dogs die young, *Am. Nat.*, **181**, 492-505, doi: 10.1086/669665.
13. Bartke, A. (2003) Can growth hormone (GH) accelerate aging? Evidence from GH-transgenic mice, *Neuroendocrinology*, **78**, 210-216, doi: 10.1159/000073704.

14. Roberts, R. C. (1961) The lifetime growth and reproduction of selected strains of mice, *Heredity*, **16**, 369-381, doi: 10.1038/hdy.1961.46.
15. Eklund, J., and Bradford, G. E. (1977) Longevity and lifetime body weight in mice selected for rapid growth, *Nature*, **265**, 48-49, doi: 10.1038/265048b0.
16. Bartke, A., Wright, J. C., Mattison, J. A., Ingram, D. K., Miller, R. A., and Roth, G. S. (2001) Extending the lifespan of long-lived mice, *Nature*, **414**, 412, doi: 10.1038/35106646.
17. Brown-Borg, H. M., Borg, K. E., Meliska, C. J., and Bartke, A. (1996) Dwarf mice and the aging process, *Nature*, **384**, 33, doi: 10.1038/384033a0.
18. Patronek, G. J., Waters, D. J., and Glickman, L. T. (1997) Comparative longevity of pet dogs and humans: implications for gerontology research, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **52**, B171-B178, doi: 10.1093/gerona/52a.3.b171.
19. Rollo, C. D. (2002) Growth negatively impacts the life span of mammals, *Evol. Dev.*, **4**, 55-61, doi: 10.1046/j.1525-142x.2002.01053.x.
20. Brosnahan, M. M., and Paradis, M. R. (2003) Demographic and clinical characteristics of geriatric horses: 467 cases (1989-1999), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **223**, 93-98, doi: 10.2460/javma.2003.223.93.
21. Samaras, T. T., and Elrick, H. (1999) Height, body size and longevity, *Acta Med. Okayama*, **53**, 149-169.
22. Shindyapina, A. V., Cho, Y., Kaya, A., Tyshkovskiy, A., Castro, J. P., Deik, A., Gordevicius, J., Poganik, J. R., Clish, C. B., Horvath, S., Peshkin, L., and Gladyshev, V. N. (2022) Rapamycin treatment during development extends life span and health span of male mice and *Daphnia magna*, *Sci. Adv.*, **8**, eabo5482, doi: 10.1126/sciadv.abo5482, doi: 10.1126/sciadv.abo5482.
23. Aiello, G., Sabino, C., Pernici, D., Audano, M., Antonica, F., Gianesello, M., Ballabio, C., Quattrone, A., Mitro, N., Romanel, A., Soldano, A., and Tiberi, L. (2022) Transient rapamycin treatment during developmental stage extends lifespan in *Mus musculus* and *Drosophila melanogaster*, *EMBO Rep.*, **23**, e55299, doi: 10.15252/embr.202255299.
24. Vangipurapu, J., Stancáková, A., Jauhiainen, R., Kuusisto, J., and Laakso, M. (2017) Short adult stature predicts impaired β -cell function, insulin resistance, glycemia, and type 2 diabetes in finnish men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **102**, 443-450, doi: 10.1210/jc.2016-2933.
25. Aguiar-Oliveira, M. H., and Bartke, A. (2019) Growth hormone deficiency: health and longevity, *Endocr. Rev.*, **40**, 575-601, doi: 10.1210/er.2018-00216.
26. Bartke, A. (2017) Somatic growth, aging, and longevity, *NPJ Aging Mech. Dis.*, **3**, 14, doi: 10.1038/s41514-017-0014-y.
27. Stuart, J. A., and Page, M. M. (2010) Plasma IGF-1 is negatively correlated with body mass in a comparison of 36 mammalian species, *Mech. Ageing Dev.*, **131**, 591-598, doi: 10.1016/j.mad.2010.08.005.
28. Yakar, S., Wu, Y., Setser, J., and Rosen, C. J. (2002) The role of circulating IGF-I: lessons from human and animal models, *Endocrine*, **19**, 239-248, doi: 10.1385/ENDO:19:3:239.
29. Tomasetti, C., Poling, J., Roberts, N. J., London, N. R., Jr., Pittman, M. E., Haffner, M. C., Rizzo, A., Baras, A., Karim, B., Kim, A., Heaphy, C. M., Meeker, A. K., Hruban, R. H., Iacobuzio-Donahue, C. A., and Vogelstein, B. (2019) Cell division rates decrease with age, providing a potential explanation for the age-dependent deceleration in cancer incidence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 20482-20488, doi: 10.1073/pnas.1905722116.
30. Papsdorf, K., Miklas, J. W., Hosseini, A., Cabruja, M., Morrow, C. S., Savini, M., Yu, Y., Silva-Garcia, C. G., Haseley, N. R., Murphy, L. M., Yao, P., de Launoit, E., Dixon, S. J., Snyder, M. P., Wang, M. C., Mair, W. B., and Brunet, A. (2023) Lipid droplets and peroxisomes are co-regulated to drive lifespan extension in response to mono-unsaturated fatty acids, *Nat. Cell Biol.*, **25**, 672-684, doi: 10.1038/s41556-023-01136-6.
31. MacRae, S. L., Croken, M. M., Calder, R. B., Aliper, A., Milholland, B., White, R. R., Zhavoronkov, A., Gladyshev, V. N., Seluanov, A., Gorbunova, V., Zhang, Z. D., and Vijg, J. (2015) DNA repair in species with extreme lifespan differences, *Aging (Albany NY)*, **7**, 1171-1184, doi: 10.18632/aging.100866.
32. Adwan Shekhidem, H., Sharvit, L., Leman, E., Manov, I., Roichman, A., Holtze, S., Huffman, D., Cohen, H., Hildebrandt, T., Shams, I., and Atzmon, G. (2019) Telomeres and longevity: a cause or an effect? *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 3233, doi: 10.3390/ijms20133233.
33. Mitteldorf, J. (2019) What is antagonistic pleiotropy? *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1458-1468, doi: 10.1134/S0006297919120058.
34. Gems, D. (2022) The hyperfunction theory: an emerging paradigm for the biology of aging, *Ageing Res. Rev.*, **74**, 101557, doi: 10.1016/j.arr.2021.101557.
35. Sakai, T., Matsui, M., Mikami, A., Malkova, L., Hamada, Y., Tomonaga, M., Suzuki, J., Tanaka, M., Miyabe-Nishiwaki, T., Makishima, H., Nakatsukasa, M., and Matsuzawa, T. (2013) Developmental patterns of chimpanzee cerebral tissues provide important clues for understanding the remarkable enlargement of the human brain, *Proc. Biol. Sci.*, **280**, 20122398, doi: 10.1098/rspb.2012.2398.
36. Gonzalez-Lagos, C., Sol, D., and Reader, S. M. (2010) Large-brained mammals live longer, *J. Evol. Biol.*, **23**, 1064-1074, doi: 10.1111/j.1420-9101.2010.01976.x.
37. Allman, J., McLaughlin, T., and Hakeem, A. (1993) Brain weight and life-span in primate species, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 118-122, doi: 10.1073/pnas.90.1.118.
38. Dunbar, R. I. (2009) The social brain hypothesis and its implications for social evolution, *Ann Hum Biol*, **36**, 562-572, doi: 10.1080/03014460902960289.
39. Bartke, A., Turyn, D., Aguilar, C. C., Sotelo, A. I., Steger, R. W., Chen, X. Z., and Kopchick, J. J. (1994)

- Growth hormone (GH) binding and effects of GH analogs in transgenic mice, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **206**, 190-194, doi: 10.3181/00379727-206-43740.
40. Bartke, A., Brown-Borg, H. M., Bode, A. M., Carlson, J., Hunter, W. S., and Bronson, R. T. (1998) Does growth hormone prevent or accelerate aging? *Exp. Gerontol.*, **33**, 675-687, doi: 10.1016/s0531-5565(98)00032-1.
 41. Sun, L. Y., Spong, A., Swindell, W. R., Fang, Y., Hill, C., Huber, J. A., Boehm, J. D., Westbrook, R., Salvatori, R., and Bartke, A. (2013) Growth hormone-releasing hormone disruption extends lifespan and regulates response to caloric restriction in mice, *Elife*, **2**, e01098, doi: 10.7554/eLife.01098.
 42. Coschigano, K. T., Holland, A. N., Riders, M. E., List, E. O., Flyvbjerg, A., and Kopchick, J. J. (2003) Deletion, but not antagonism, of the mouse growth hormone receptor results in severely decreased body weights, insulin, and insulin-like growth factor I levels and increased life span, *Endocrinology*, **144**, 3799-3810, doi: 10.1210/en.2003-0374.
 43. Coschigano, K. T., Clemmons, D., Bellush, L. L., and Kopchick, J. J. (2000) Assessment of growth parameters and lifespan of GHR/BP gene-disrupted mice, *Endocrinology*, **141**, 2608-2613, doi: 10.1210/endo.141.7.7586.
 44. Fabris, N., Pierpaoli, W., and Sorkin, E. (1972) Lymphocytes, hormones, and ageing, *Nature*, **240**, 557-559, doi: 10.1038/240557a0.
 45. Silberberg, R. (1972) Articular aging and osteoarthritis in dwarf mice, *Pathol. Microbiol.*, **38**, 417-430, doi: 10.1159/000162458.
 46. Schneider, G. B. (1976) Immunological competence in Snell-Bagg pituitary dwarf mice: response to the contact-sensitizing agent oxazolone, *Am. J. Anat.*, **145**, 371-394, doi: 10.1002/aja.1001450306.
 47. Shire, J. G. (1973) Growth hormone and premature ageing, *Nature*, **245**, 215-216, doi: 10.1038/245215a0.
 48. Sun, L. Y., Fang, Y., Patki, A., Koopman, J. J., Allison, D. B., Hill, C. M., Masternak, M. M., Darcy, J., Wang, J., McFadden, S., and Bartke, A. (2017) Longevity is impacted by growth hormone action during early postnatal period, *Elife*, **6**, e24059, doi: 10.7554/eLife.24059.
 49. Sadagurski, M., Landeryou, T., Cady, G., Kopchick, J. J., List, E. O., Berryman, D. E., Bartke, A., and Miller, R. A. (2015) Growth hormone modulates hypothalamic inflammation in long-lived pituitary dwarf mice, *Ageing Cell*, **14**, 1045-1054, doi: 10.1111/accel.12382.
 50. Li, X., McPherson, M., Hager, M., Fang, Y., Bartke, A., and Miller, R. A. (2022) Transient early life growth hormone exposure permanently alters brain, muscle, liver, macrophage, and adipocyte status in long-lived Ames dwarf mice, *FASEB J.*, **36**, e22394, doi: 10.1096/fj.202200143R.
 51. Zhang, F., Icyuz, M., Bartke, A., and Sun, L. Y. (2020) The effects of early-life growth hormone intervention on tissue specific histone H3 modifications in long-lived Ames dwarf mice, *Ageing (Albany NY)*, **13**, 1633-1648, doi: 10.18632/aging.202451.
 52. Colao, A., Ferone, D., Marzullo, P., and Lombardi, G. (2004) Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management, *Endocr. Rev.*, **25**, 102-152, doi: 10.1210/er.2002-0022.
 53. Jadresic, A., Banks, L. M., Child, D. F., Diamant, L., Doyle, F. H., Fraser, T. R., and Joplin, G. F. (1982) The acromegaly syndrome. Relation between clinical features, growth hormone values and radiological characteristics of the pituitary tumours, *Quart. J. Med.*, **51**, 189-204.
 54. Orme, S. M., McNally, R. J., Cartwright, R. A., and Belchetz, P. E. (1998) Mortality and cancer incidence in acromegaly: a retrospective cohort study. United Kingdom Acromegaly Study Group, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **83**, 2730-2734, doi: 10.1210/jcem.83.8.5007.
 55. Pendergrass, W. R., Li, Y., Jiang, D., and Wolf, N. S. (1993) Decrease in cellular replicative potential in "giant" mice transfected with the bovine growth hormone gene correlates to shortened life span, *J. Cell Physiol.*, **156**, 96-103, doi: 10.1002/jcp.1041560114.
 56. Wolf, E., Kahnt, E., Ehrlein, J., Hermanns, W., Brem, G., and Wanke, R. (1993) Effects of long-term elevated serum levels of growth hormone on life expectancy of mice: lessons from transgenic animal models, *Mech. Ageing Dev.*, **68**, 71-87, doi: 10.1016/0047-6374(93)90141-d.
 57. Aguiar-Oliveira, M. H., Oliveira, F. T., Pereira, R. M., Oliveira, C. R., Blackford, A., Valenca, E. H., Santos, E. G., Gois-Junior, M. B., Meneguz-Moreno, R. A., Araujo, V. P., Oliveira-Neto, L. A., Almeida, R. P., Santos, M. A., Farias, N. T., Silveira, D. C., Cabral, G. W., Calazans, F. R., Seabra, J. D., Lopes, T. F., Rodrigues, E. O., et al. (2010) Longevity in untreated congenital growth hormone deficiency due to a homozygous mutation in the GHRH receptor gene, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **95**, 714-721, doi: 10.1210/jc.2009-1879.
 58. Laron, Z. (2011) Life span and mortality of patients with Laron Syndrome, in *Laron syndrome – from Man to Mouse : Lessons from Clinical and Experimental Experience* (Laron, Z., and Kopchick, J. J., eds) 1 Edn., Springer, Berlin, Heidelberg, doi: 10.1007/978-3-642-11183-9_41.
 59. Besson, A., Salemi, S., Gallati, S., Jenal, A., Horn, R., Mullis, P. S., and Mullis, P. E. (2003) Reduced longevity in untreated patients with isolated growth hormone deficiency, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**, 3664-3667, doi: 10.1210/jc.2002-021938.
 60. Guevara-Aguirre, J., Balasubramanian, P., Guevara-Aguirre, M., Wei, M., Madia, F., Cheng, C. W., Hwang, D., Martin-Montalvo, A., Saavedra, J., Ingles, S., de Cabo, R., Cohen, P., and Longo, V. D. (2011) Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans, *Sci. Transl. Med.*, **3**, 70ra13, doi: 10.1126/scitranslmed.3001845.

61. Krzysnik, C., Grguric, S., Cvijovic, K., and Laron, Z. (2010) Longevity of the hypopituitary patients from the island Krk: a follow-up study, *Pediatr. Endocrinol. Rev.*, **7**, 357-362.
62. Schoenmaker, M., de Craen, A. J., de Meijer, P. H., Beekman, M., Blauw, G. J., Slagboom, P. E., and Westendorp, R. G. (2006) Evidence of genetic enrichment for exceptional survival using a family approach: the Leiden Longevity Study, *Eur. J. Hum. Genet.*, **14**, 79-84, doi: 10.1038/sj.ejhg.5201508.
63. Rosing, M. P., Westendorp, R. G., de Craen, A. J., Frollich, M., de Goeij, M. C., Heijmans, B. T., Beekman, M., Wijman, C. A., Mooijaart, S. P., Blauw, G. J., Slagboom, P. E., and van Heemst, D. (2010) Favorable glucose tolerance and lower prevalence of metabolic syndrome in offspring without diabetes mellitus of nonagenarian siblings: the Leiden longevity study, *J. Am. Geriatr. Soc.*, **58**, 564-569, doi: 10.1111/j.1532-5415.2010.02725.x.
64. De Goeij, M. C., Halbesma, N., Dekker, F. W., Wijman, C. A., van Heemst, D., Maier, A. B., Mooijaart, S. P., Slagboom, P. E., Westendorp, R. G., and de Craen, A. J. (2014) Renal function in familial longevity: the Leiden Longevity Study, *Exp. Gerontol.*, **51**, 65-70, doi: 10.1016/j.exger.2013.12.012.
65. Kroft, L. J., van der Bijl, N., van der Grond, J., Altmann-Schneider, I., Slagboom, P. E., Westendorp, R. G., de Roos, A., and de Craen, A. J. (2014) Low computed tomography coronary artery calcium scores in familial longevity: the Leiden Longevity Study, *Age (Dordr)*, **36**, 9668, doi: 10.1007/s11357-014-9668-6.
66. Altmann-Schneider, I., de Craen, A. J. M., Slagboom, P. E., Westendorp, R. G. J., van Buchem, M. A., Maier, A. B., and van der Grond, J. (2012) Brain tissue volumes in familial longevity: the Leiden Longevity Study, *Aging Cell*, **11**, 933-939, doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00868.x.
67. Altmann-Schneider, I., van der Grond, J., Slagboom, P. E., Westendorp, R. G., Maier, A. B., van Buchem, M. A., and de Craen, A. J. (2013) Lower susceptibility to cerebral small vessel disease in human familial longevity: the Leiden Longevity Study, *Stroke*, **44**, 9-14, doi: 10.1161/STROKEAHA.112.671438.
68. Stijntjes, M., de Craen, A. J. M., van Heemst, D., Meskers, C. G. M., van Buchem, M. A., Westendorp, R. G. J., Slagboom, P. E., and Maier, A. B. (2013) Familial longevity is marked by better cognitive performance at middle age: The Leiden Longevity Study, *PLoS One*, **8**, e57962, doi: 10.1371/journal.pone.0057962.
69. Westendorp, R. G., van Heemst, D., Rosing, M. P., Frollich, M., Mooijaart, S. P., Blauw, G. J., Beekman, M., Heijmans, B. T., de Craen, A. J., and Slagboom, P. E. for the Leiden Longevity Study Group (2009) Nonagenarian siblings and their offspring display lower risk of mortality and morbidity than sporadic nonagenarians: The Leiden Longevity Study, *J. Am. Geriatr. Soc.*, **57**, 1634-1637, doi: 10.1111/j.1532-5415.2009.02381.x.
70. Van der Spoel, E., Jansen, S. W., Akintola, A. A., Ballieux, B. E., Cobbaert, C. M., Slagboom, P. E., Blauw, G. J., Westendorp, R. G. J., Pijl, H., Roelfsema, F., and van Heemst, D. (2016) Growth hormone secretion is diminished and tightly controlled in humans enriched for familial longevity, *Aging Cell*, **15**, 1126-1131, doi: 10.1111/ace1.12519.
71. Zhang, W. B., Ye, K., Barzilai, N., and Milman, S. (2021) The antagonistic pleiotropy of insulin-like growth factor 1, *Aging Cell*, **20**, e13443, doi: 10.1111/ace1.13443.
72. Yuan, R., Tsaih, S. W., Petkova, S. B., Marin de Evsikova, C., Xing, S., Marion, M. A., Bogue, M. A., Mills, K. D., Peters, L. L., Bult, C. J., Rosen, C. J., Sundberg, J. P., Harrison, D. E., Churchill, G. A., and Paigen, B. (2009) Aging in inbred strains of mice: study design and interim report on median lifespans and circulating IGF1 levels, *Aging Cell*, **8**, 277-287, doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00478.x.
73. Yuan, R., Meng, Q., Nautiyal, J., Flurkey, K., Tsaih, S. W., Krier, R., Parker, M. G., Harrison, D. E., and Paigen, B. (2012) Genetic coregulation of age of female sexual maturation and lifespan through circulating IGF1 among inbred mouse strains, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 8224-8229, doi: 10.1073/pnas.1121113109.
74. Yuan, R., Musters, C. J. M., Zhu, Y., Evans, T. R., Sun, Y., Chesler, E. J., Peters, L. L., Harrison, D. E., and Bartke, A. (2020) Genetic differences and longevity-related phenotypes influence lifespan and lifespan variation in a sex-specific manner in mice, *Aging Cell*, **19**, e13263, doi: 10.1111/ace1.13263.
75. Ideraabdullah, F. Y., de la Casa-Esperon, E., Bell, T. A., Detwiler, D. A., Magnuson, T., Sapienza, C., and de Villena, F. P. (2004) Genetic and haplotype diversity among wild-derived mouse inbred strains, *Genome Res.*, **14**, 1880-1887, doi: 10.1101/gr.2519704.
76. Mao, K., Quipildor, G. F., Tabrizian, T., Novaj, A., Guan, F., Walters, R. O., Delahaye, F., Hubbard, G. B., Ikeno, Y., Ejima, K., Li, P., Allison, D. B., Salimi-Moosavi, H., Beltran, P. J., Cohen, P., Barzilai, N., and Huffman, D. M. (2018) Late-life targeting of the IGF-1 receptor improves healthspan and lifespan in female mice, *Nat. Commun.*, **9**, 2394, doi: 10.1038/s41467-018-04805-5.
77. Bargas-Galarraga, I., Vila, C., and Gonzalez-Voyer, A. (2023) High investment in reproduction is associated with reduced life span in dogs, *Am. Nat.*, **201**, 163-174, doi: 10.1086/722531.
78. Oosthuizen, W. C., Peron, G., Pradel, R., Bester, M. N., and de Bruyn, P. J. N. (2021) Positive early-late life-history trait correlations in elephant seals, *Ecology*, **102**, e03288, doi: 10.1002/ecy.3288.
79. Shanley, D. P., and Kirkwood, T. B. (2000) Calorie restriction and aging: a life-history analysis, *Evolution*, **54**, 740-750, doi: 10.1111/j.0014-3820.2000.tb00076.x.
80. Solon-Biet, S. M., Walters, K. A., Simanainen, U. K., McMahon, A. C., Ruohonen, K., Ballard, J. W. O.,

- Raubenheimer, D., Handelsman, D. J., Le Couteur, D. G., and Simpson, S. J. (2015) Macronutrient balance, reproductive function, and lifespan in aging mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 3481-3486, doi:10.1073/pnas.1422041112.
81. Senior, A. M., Solon-Biet, S. M., Cogger, V. C., Le Couteur, D. G., Nakagawa, S., Raubenheimer, D., and Simpson, S. J. (2019) Dietary macronutrient content, age-specific mortality and lifespan, *Proc. Biol. Sci.*, **286**, 20190393, doi: 10.1098/rspb.2019.0393.
82. Simpson, S. J., Clissold, F. J., Lihoreau, M., Ponton, F., Wilder, S. M., and Raubenheimer, D. (2015) Recent advances in the integrative nutrition of arthropods, *Annu. Rev. Entomol.*, **60**, 293-311, doi: 10.1146/annurev-ento-010814-020917.
83. Simpson, S. J., Le Couteur, D. G., Raubenheimer, D., Solon-Biet, S. M., Cooney, G. J., Cogger, V. C., and Fontana, L. (2017) Dietary protein, aging and nutritional geometry, *Ageing Res. Rev.*, **39**, 78-86, doi: 10.1016/j.arr.2017.03.001.
84. Weindruch, R., and Walford, R. L. (1988) *The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction*, Charles C. Thomas, Springfield, IL.
85. Merry, B. J., and Holehan, A. M. (1979) Onset of puberty and duration of fertility in rats fed a restricted diet, *J. Reprod. Fertil.*, **57**, 253-259, doi: 10.1530/jrf.0.0570253.
86. Bartke, A., Brown-Borg, H., Mattison, J., Kinney, B., Hauck, S., and Wright, C. (2001) Prolonged longevity of hypopituitary dwarf mice, *Exp. Gerontol.*, **36**, 21-28, doi: 10.1016/S0531-5565(00)00205-9.
87. Zhu, Y., Fang, Y., Medina, D., Bartke, A., and Yuan, R. (2022) Metformin treatment of juvenile mice alters aging-related developmental and metabolic phenotypes, *Mech. Ageing Dev.*, **201**, 111597, doi: 10.1016/j.mad.2021.111597.
88. Kulkarni, A. S., Gubbi, S., and Barzilai, N. (2020) Benefits of metformin in attenuating the hallmarks of aging, *Cell Metab.*, **32**, 15-30, doi: 10.1016/j.cmet.2020.04.001.
89. Dupont, J., Reverchon, M., Bertoldo, M. J., and Froment, P. (2014) Nutritional signals and reproduction, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **382**, 527-537, doi: 10.1016/j.mce.2013.09.028.
90. Hardie, D. G. (2007) AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 774-785, doi: 10.1038/nrm2249.
91. Shaw, R. J. (2009) LKB1 and AMP-activated protein kinase control of mTOR signalling and growth, *Acta Physiol. (Oxf)*, **196**, 65-80, doi: 10.1111/j.1748-1716.2009.01972.x.
92. Guo, Z., and Yu, Q. (2019) Role of mTOR signaling in female reproduction, *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **10**, 692, doi: 10.3389/fendo.2019.00692.
93. Kozłowski, J., Konarzewski, M., and Czarnoleski, M. (2020) Coevolution of body size and metabolic rate in vertebrates: a life-history perspective, *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.*, **95**, 1393-1417, doi: 10.1111/brv.12615.
94. Tatar, M. (2023) Stalking the link between reproduction and aging, *EMBO Rep.*, **24**, e57374, doi: 10.15252/embr.202357374.
95. White, C. R., Alton, L. A., Bywater, C. L., Lombardi, E. J., and Marshall, D. J. (2022) Metabolic scaling is the product of life-history optimization, *Science*, **377**, 834-839, doi: 10.1126/science.abm7649.
96. Waddington, C. H. (1959) Canalization of development and genetic assimilation of acquired characters, *Nature*, **183**, 1654-1655, doi: 10.1038/1831654a0.
97. Silveira, P. P., Portella, A. K., Goldani, M. Z., and Barbieri, M. A. (2007) Developmental origins of health and disease (DOHaD), *J. Pediatr. (Rio J)*, **83**, 494-504, doi: 10.2223/JPED.1728.
98. Vaiserman, A. M. (2015) Epigenetic programming by early-life stress: evidence from human populations, *Dev. Dynamics*, **244**, 254-265, doi: 10.1002/dvdy.24211.
99. Hargreaves, D., Mates, E., Menon, P., Alderman, H., Devakumar, D., Fawzi, W., Greenfield, G., Hammoudeh, W., He, S., Lahiri, A., Liu, Z., Nguyen, P. H., Sethi, V., Wang, H., Neufeld, L. M., and Patton, G. C. (2022) Strategies and interventions for healthy adolescent growth, nutrition, and development, *Lancet*, **399**, 198-210, doi: 10.1016/S0140-6736(21)01593-2.
100. Waddington, C. H. (2014) *The Strategy of the Genes*, Routledge, doi: 10.4324/9781315765471.
101. Austad, S. N., and Hoffman, J. M. (2018) Is antagonistic pleiotropy ubiquitous in aging biology? *Evol. Med. Public Health*, **2018**, 287-294, doi: 10.1093/emph/eoy033.
102. Kirkwood, T. B., and Rose, M. R. (1991) Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **332**, 15-24, doi: 10.1098/rstb.1991.0028.
103. Feltes, B. C., de Faria Poloni, J., and Bonatto, D. (2015) Development and aging: two opposite but complementary phenomena, *Interdiscip. Top. Gerontol.*, **40**, 74-84, doi: 10.1159/000364932.
104. Blagosklonny, M. V. (2022) Rapamycin treatment early in life reprograms aging: hyperfunction theory and clinical practice, *Ageing (Albany NY)*, **14**, 8140-8149, doi: 10.18632/aging.204354.
105. Parra-Vargas, M., Ramon-Krauel, M., Lerin, C., and Jimenez-Chillaron, J. C. (2020) Size does matter: litter size strongly determines adult metabolism in rodents, *Cell Metab.*, **32**, 334-340, doi: 10.1016/j.cmet.2020.07.014.
106. Wang, T., Ma, J., Hogan, A. N., Fong, S., Licon, K., Tsui, B., Kreisberg, J. F., Adams, P. D., Carvunis, A. R., Bannasch, D. L., Ostrander, E. A., and Ideker, T. (2020) Quantitative translation of dog-to-human aging by conserved remodeling of the DNA methylome, *Cell Syst.*, **11**, 176-185.e176, doi: 10.1016/j.cels.2020.06.006.
107. Dietz, W. H. (1998) Childhood weight affects adult morbidity and mortality, *J. Nutr.*, **128**, 411s-414s, doi: 10.1093/jn/128.2.411S.

108. Maffei, C., and Tatò, L. (2001) Long-term effects of childhood obesity on morbidity and mortality, *Hormone Res.*, **55 Suppl 1**, 42-45, doi: 10.1159/000063462.
109. Aguiar-Oliveira, M. H., and Salvatori, R. (2012) Lifetime Growth Hormone (GH) Deficiency: Impact on Growth, Metabolism, Body Composition, and Survival Capacity, in *Handbook of Growth and Growth Monitoring in Health and Disease* (Preedy, V. R., ed.) Springer New York, New York, NY, pp. 2699-2710, doi: 10.1007/978-1-4419-1795-9_160.
110. Migliano, A. B., Vinicius, L., and Lahr, M. M. (2007) Life history trade-offs explain the evolution of human pygmies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 20216-20219, doi: 10.1073/pnas.0708024105.
111. Terzibasi, E., Lefrancois, C., Domenici, P., Hartmann, N., Graf, M., and Cellerino, A. (2009) Effects of dietary restriction on mortality and age-related phenotypes in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*, *Aging Cell*, **8**, 88-99, doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00455.x.
112. Reichard, M., and Polačik, M. (2019) *Nothobranchius furzeri*, an ‘instant’ fish from an ephemeral habitat, *eLife*, **8**, e41548, doi: 10.7554/eLife.41548.
113. Holmes, D. J., and Austad, S. N. (1995) Birds as animal models for the comparative biology of aging: a prospectus, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **50**, B59-B66, doi: 10.1093/gerona/50a.2.b59.
114. Harper, J. M., and Holmes, D. J. (2021) New perspectives on avian models for studies of basic aging processes, *Biomedicine*, **9**, 649, doi: 10.3390/biomedicine9060649.
115. Darcy, J., and Bartke, A. (2017) Functionally enhanced brown adipose tissue in Ames dwarf mice, *Adipocyte*, **6**, 62-67, doi: 10.1080/21623945.2016.1274470.
116. Westbrook, R., Bonkowski, M. S., Strader, A. D., and Bartke, A. (2009) Alterations in oxygen consumption, respiratory quotient, and heat production in long-lived GHRKO and Ames dwarf mice, and short-lived bGH transgenic mice, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **64**, 443-451, doi: 10.1093/gerona/gln075.
117. Darcy, J., Fang, Y., Hill, C. M., McFadden, S., Sun, L. Y., and Bartke, A. (2016) Original Research: Metabolic alterations from early life thyroxine replacement therapy in male Ames dwarf mice are transient, *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **241**, 1764-1771, doi: 10.1177/1535370216650292.
118. Bartke, A., Brannan, S., Hascup, E., Hascup, K., and Darcy, J. (2021) Energy metabolism and aging, *World J. Mens Health*, **39**, 222-232, doi: 10.5534/wjmh.200112.

RELATIONSHIPS AMONG DEVELOPMENT, GROWTH, BODY SIZE, REPRODUCTION, AGING, AND LONGEVITY – TRADE-OFFS AND PACE-OF-LIFE

Review

R. Yuan^{1*}, E. Hascup², K. Hascup^{2,3}, and A. Bartke¹

¹ Southern Illinois University School of Medicine, Department of Internal Medicine, 19628 Springfield, Illinois, USA; e-mail: ryuan@siumed.edu

² Southern Illinois University School of Medicine, Department of Medical, Microbial, Cellular Immunology and Biology, 19628 Springfield, Illinois, USA

³ Department of Neurology, Dale and Deborah Smith Center for Alzheimer's Research and Treatment, Neuroscience Institute, Southern Illinois University School of Medicine, Springfield, Illinois, USA

Relationships of growth, metabolism, reproduction, and body size to the biological process of aging and longevity have been studied for decades and various unifying “theories of aging” have been proposed to account for the observed associations. In general, fast development, early sexual maturation leading to early reproductive effort, as well as production of many offspring, have been linked to shorter lifespans. The relationship of adult body size to longevity includes a remarkable contrast between the positive correlation in comparisons between different species and the negative correlation seen in comparisons of individuals within the same species. We now propose that longevity and presumably also the rate of aging are related to the “pace-of-life.” A slow pace-of-life including slow growth, late sexual maturation, and a small number of offspring, predicts slow aging and long life. The fast pace of life (rapid growth, early sexual maturation, and major reproductive effort) is associated with faster aging and shorter life, presumably due to underlying trade-offs. The proposed relationships between the pace-of-life and longevity apply to both inter- and intra-species comparisons as well as to dietary, genetic, and pharmacological interventions that extend life and to evidence for early life programming of the trajectory of aging. Although available evidence suggests the causality of at least some of these associations, much further work will be needed to verify this interpretation and to identify mechanisms that are responsible.

Keywords: aging, longevity, pace-of-life, trade-offs, developmental programming, growth, reproduction, body size

ОЛОВНИКОВ, ТЕЛОМЕРЫ И ТЕЛОМЕРАЗА. ВОЗМОЖНО ЛИ ПРОДЛЕНИЕ ЗДОРОВОЙ ЖИЗНИ?

Обзор

© 2023 Е.Е. Егоров

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991 Москва, Россия; электронная почта: yegorov58@gmail.com

Поступила в редакцию 20.07.2023

После доработки 29.08.2023

Принята к публикации 31.08.2023

Наука о теломерах и теломеразе сделала огромный прогресс за последние десятилетия. В этом обзоре мы рассматриваем ее сначала в историческом контексте (цепочка открытий Каррель → Хейфлик → Оловников → Блекборн), а затем рассматриваем современные знания об устройстве и динамике теломер в норме и патологии. Центральной темой обзора являются последствия укорочения теломер, включая теломерный эффект положения, сигнал повреждения ДНК и увеличение генетической нестабильности. Отдельно рассматривается клеточная сенильность и роль длины теломер в ее развитии. Также обсуждаются терапевтические аспекты и риски применения теломеразы и других способов удлинения теломер.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: теломеры, теломераза, старение, канцерогенез, Оловников, теломерный кризис, клеточное старение, воспалительное старение, генетическая нестабильность.

DOI: 10.31857/S0320972523110040, EDN: MMNSJH

ИСТОРИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ

Цитологи называют теломерами концевые участки хромосом, видимые в световом микроскопе. Это очень большие структуры, охватывающие районы в миллионы пар оснований ДНК. Впервые описания теломер как особых структур, обеспечивающих целостность хромосом, появились в работах Меллера, выполненных на хромосомах дрозофилы в 1938 г. [1], и в работах МакКлинток, выполненных на хромосомах кукурузы в 1938–1941 гг. [2–4]. Суть этих ранних наблюдений заключается в том, что разорванная хромосома остается нестабильной до тех пор, пока не обретет новую теломеру либо за счет рекомбинации, либо *de novo*. Современные биологи называют теломерами значительно меньшие концевые районы хромосом – длиной тысячи нуклеотидных пар.

Идея о стабилизации линейной хромосомы за счет особой организации концевой области, хотя и осознавалась учеными, но не была особо плодотворной. Драйвером изучения теломер послужили исследования о смертных и бессмертных клетках.

Еще в XIX веке после многочисленных доказательств клеточной теории стало ясно, что существуют смертные и бессмертные клетки многоклеточных организмов, в том числе человека. Бессмертные клетки должны быть, поскольку живые организмы, являясь продуктом длительной эволюции, до сих пор живы. При этом наши клетки умирают, в том числе и программным образом. Ранние опыты по культивированию клеток указывали на потенциальное бессмертие клеток. Опыты по серийной трансплантации опухолевых клеток в перитонеальных полостях крыс (конец XIX века) [5], потом известный опыт Алексиса Карреля, когда клетки цыпленка непрерывно размножались 30 лет, создали не совсем верное представление о бессмертии клеток [6].

Ретроспективно мы понимаем, что опыты, демонстрирующие смертность клеток в культуре, мало информативны. Такой результат всегда можно объяснить технической ошибкой. В качестве яркого примера можно привести с большим трудом опубликованную работу Леонарда Хейфлика, которая говорила о том, что «в наших руках клетки не способны к бесконечному делению» [7].

Будущий нобелевский лауреат Пейтон Раус (Peyton Rous) в качестве рецензии написал всего одно слово – «чуть» [8]. Тем не менее «предел Хейфлика» оказался реальным, а термин стал общепринятым.

Главной причиной устойчивости мнения о том, что культивируемые клетки бессмертны, была известность Карреля. Автор идеи делать органы из клеток пациента, чтобы избежать отторжения (еще до открытия групп крови), автор сосудистого шва (Нобелевская премия 1912 г.), изобретатель массы приспособлений для трансплантации и стерильной работы – он был чрезвычайно авторитетен. Фактически, им была разработана технология первичной хирургической обработки ран во время Первой мировой войны, что спасло тысячи жизней. В то же время он был человеком, предложившим «гуманный и экономичный способ утилизации неполноценных людей в газовых камерах» («should be humanely and economically disposed of in small euthanasic institutions supplied with proper gases»), что было реализовано уже во время Второй мировой войны. После 1945 г. в 20 городах Франции были обратно переименованы улицы, названные в честь Карреля. Французы очень не любили тех, кто сотрудничал с нацистами [9–11].

Итак, обнаруженное в опытах Хейфлика ограничение пролиферативного потенциала должно было найти объяснение. После того, как в общих чертах стали ясны механизмы репликации ДНК, появилась гипотеза, предлагающая механизм работы такого счетчика. В 1971 г. Алексей Оловников предложил «принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов», который заключается в том, что ДНК-полимераза не в состоянии полностью реплицировать линейную матрицу, реплика получается всегда короче в начальной ее части [12]. Постепенное укорачивание ДНК (недорепликация) ограничивает пролиферативный потенциал клеток и может служить основой счетчика клеточных делений в опытах Хейфлика. В той же работе было постулировано, что в бессмертных клетках должен существовать фермент, который достраивает хромосомные концы.

Подобный фермент, впоследствии названный теломеразой, был обнаружен в 1985 г. в клетках простейшего [13]. Авторы в то время посчитали, что обнаруженный ими в клетках инфузории фермент нужен только для репликации особых теломер этого простейшего. Позже они (Нобелевские лауреаты Элизабет Блекборн и Кэрол Грейдер) вспоминали: «Мы не знали об идеях Оловникова до 1988 г., когда

Кальвин Харли рассказал о них Грейдер. Заинтригованные, Грейдер, Харли и их коллеги решили выяснить, не происходит ли со временем укорочение хромосом в клетках человека» [14].

Уже в следующем 1989 г. теломераза была обнаружена в клетках человека, и было обнаружено изменение длины теломер человека в процессе развития. Через год было выявлено укорочение теломер при старении клеток. В 1998 г. было доказано, что экспрессия теломеразы, индуцированная путем введения гена, ведет к иммортализации клеток.

Помимо провидческих статей Оловникова 1971 и 1973 гг., можно выделить несколько других его важных работ. Несколько месяцев назад Алексея Матвеевича не стало, и при написании исторической части обзора хотелось бы особенно остановиться на некоторых его гипотезах: подтвержденных и нет. Во-первых, мало кто вспоминает, что Оловников предположил, что, помимо недорепликации, к укорочению теломер может приводить и недорепарация [15, 16]. Действительно, впоследствии было обнаружено, что теломеры укорачиваются с разной скоростью (из расчета на деление) в зависимости от условий культивирования клеток [17, 18]. Таким образом, укорочение теломер превращается не в простой счетчик делений, а в суммарный показатель, учитывающий различные факторы, в том числе условия окислительного стресса.

Во-вторых, примерно на границе тысячелетий Оловников выдвинул гипотезу о существовании перихромосомных частиц, представляющих собой копии сегментов хромосом [19]. Было предположено, что транскрипция этих частиц дает некие короткие РНК, управляющие многими процессами, связанными с пространственной и временной регуляцией генов и перестройкой хроматина. Были введены термины: редусомы, хрономеры, принтомеры, фонтанная РНК и др. Эта гипотеза до сих пор ждет своего подтверждения. Отдаленным аналогом таких частиц можно считать TERRA (см. далее).

Следует отметить, что научные события, связанные с изучением клеточного бессмертия, приобрели широкую известность в силу их интенсивного освещения массовой прессой. Автор данной статьи узнал о пресловутых 50 делениях, на которые способны клетки человека, из газеты «*За рубежом*». Термин «предел Хейфлика» вошел в энциклопедии. В отличие от Хейфлика и Карреля, работы Оловникова были мало известны, в том числе из-за оторванности советской науки от мирового процесса. Только перевод работы 1971 г.

3'-конца является прямым следствием концевой недорепликации, а именно: удаления 5'-концевой РНК-затравки на противоположной цепи и невозможность ее заполнить ДНК-полимеразой при репликации.

Как следует из структуры, этот одонитевой участок содержит повторяющиеся кластеры из трех гуанинов (GGG). Расчеты показывают, что такая последовательность легко образует неканонические структуры (триплексы, квадруплексы). G-4-структуры (квадруплексы) могут быть интрамолекулярными, бимолекулярными и даже тетрамолекулярными, то есть соединяющими 4 нити ДНК. Нити в них могут быть параллельными и антипараллельными. Считается, что для образования квадруплекса требуется минимум 12 гуанинов [23].

Существует альтернативная, более широко принятая модель поведения одноцепочечного 3'-конца ДНК. Эксперименты группы De Lange позволили предложить модель теломеры, основанную на теломерной петле [24]. Согласно ей, одноцепочечный конец вместе с белками взаимодействует с двойной спиралью теломерной ДНК. Таким образом, формируется теломерная петля. Длина этой петли коррелирует с длиной теломерного повтора, измеренной независимыми методами.

Шесть белков, присутствующих в теломерах, образуют комплекс, который получил название шелтерин. Два белка (TRF1 и TRF2) связывают двуцепочечные районы теломерной ДНК, два белка (POT1 и TPP1) связывают одноцепочечную ДНК, а еще два белка (TIN2 и Rap1) не имеют (по крайней мере у человека) ДНК-связывающих сайтов [25, 26] (рис. 1).

Несмотря на то что теломерные районы ДНК лишены последовательностей, кодирующих белки, они транскрибируются. При этом образуется длинная некодирующая РНК TERRA (TElomeric Repeat-containing RNA) [27, 28]. Экспрессия TERRA инициируется в субтеломерных областях [29]. Таким образом, она содержит субтеломерные последовательности с 5'-конца и теломерные повторы UUAGGG – на 3'-конце [30].

Различные события, ведущие к изменению экспрессии TERRA, сильно отражаются на длине теломер [31, 32]. Например, экспрессия TERRA очень чувствительна к стрессам [33, 34] и зависит от эпигенетических изменений в субтеломерных областях [35]. Интересно, что TERRA в большом количестве обнаруживается в составе экзосом плазмы и способна модулировать воспалительный ответ [36]. Также экспрессия TERRA меняется при прогерии Хатчинсона–Гилфорда [37].

В целом, однако, пока не сложилась понятная картина функционирования TERRA. Ясно, что экспрессия TERRA влияет на массу очень разнородных клеточных реакций, включая поддержание теломер, состояние хроматина, ответ на стресс, индукцию воспаления. Интенсивно изучают участие TERRA в канцерогенезе. Читателю можно рекомендовать свежие статьи [38–42].

ТЕЛОМЕРАЗА

Теломераза является обратной транскриптазой со встроенной РНК-матрицей для синтеза теломерного повтора. Основу фермента составляет белковая часть human telomerase reverse transcriptase (hTERT) и РНК-компонент (hTERC). Малая часть hTERC содержит матрицу для синтеза теломерной ДНК [43]. Фермент работает в виде большого комплекса с молекулярной массой около полумиллиона дальтон. В комплекс входят hTERT, hTERC, дискерин, TCAB1, а также временно ассоциированные белки (pontin, reptin) и шапероны HSP90 и TRiC [44].

Как и было предсказано в гипотезе Оловникова, теломераза экспрессируется в половых, стволовых и раковых клетках. В последнем случае наблюдается активация hTERT, которая в нормальных соматических клетках практически отсутствует. В сравнительно небольшом проценте случаев (в зависимости от тканевого происхождения рака) раковые клетки активируют альтернативный механизм поддержания теломер (ALT), основанный на рекомбинации.

Ограничивающим скорость работы компонентом теломеразы у человека является белок hTERT. Ген, кодирующий hTERT, имеет общую длину около 37 кб и состоит из 16 экзон и 15 интронов. У человека описано 20 вариантов сплайсинга *hTERT* [45], некоторые из которых сильно влияют на теломеразную активность [46]. Сплайсинг *hTERT* меняется не только в процессе развития, но и при канцерогенезе [47].

Другим способом регуляции активности теломеразы является транскрипционный. Промотор *hTERT* содержит множество сайтов связывания факторов транскрипции. Среди наиболее изученных регуляторов можно выделить с-Мус, рецептор эстрогена, HIF-1, NF- κ B, Menin, STAT3/5, MAD1, ETS, Sp1/3, USF, NFX1 и др. [48]. Присутствие сайтов для многочисленных активаторов и репрессоров предполагает очень сложную систему регуляции экспрессии гена (рис. 2).

ВНЕХРОМОСОМНЫЕ ФУНКЦИИ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Со временем стали накапливаться данные о действии теломеразы, которые трудно объяснить только через влияние на хромосомы. Например, усиленная экспрессия mTERT (мышинная теломераза) способствует канцерогенезу и заживлению ран [54]. Усиленная экспрессия теломеразы изменяет функции стволовых клеток [55]. Удивительный результат был получен при введении гена *hTERT* в клетки пациента, страдающего болезнью Ниманна–Пика, редким наследственным заболеванием, характеризующимся нарушением липидного метаболизма. Введение *hTERT* нормализовало фенотип клеток [56]. Было также показано, что теломераза влияет на активность генов гликолиза [57], стимулирует транскрипцию генов, ассоциированных с эпителио-мезенхимальным переходом (*vimentin* и *snail*) [58]. Теломераза может влиять на работу NF-κB-зависимых генов, то есть участвовать в регуляции воспаления [59]. Описано взаимное влияние hTERT на каскад Wnt [60].

В условиях окислительного стресса hTERT действует как редокс-регулятор, перемещаясь в митохондрии, где защищает митохондриальную ДНК и способствует поддержанию уровня антиокислительных ферментов [61]. Не совсем ясен вопрос о том, происходит ли передвижение hTERT из ядра в митохондрии или ново-синтезированный белок идет в митохондрии напрямую.

Экспрессия *hTERT* участвует в эпигенетической регуляции, влияя на фактор STAT3, который активирует ДНК-метилтрансферазу I [62]. В 2009 г. был обнаружен факт, что белок hTERT способен образовывать комплекс не только с hTERC, но и с RMRP (RNA component of mitochondrial RNA-processing endoribonuclease) [63]. Такой комплекс обладает

РНК-зависимой РНК-полимеразной активностью, продуцируя длинные двуцепочечные РНК. Мутации RMRP ассоциированы с болезнью гипоплазии хряща и волос у человека [64]. Высказываются предположения, что hTERT может формировать аналогичные комплексы с другими РНК [65]. Нами было показано ранее, что даже без РНК теломеразный белок обладает нематричной ДНК-полимеразной активностью [66]. Впоследствии эти данные были подтверждены [67].

ЧТО ПРОИСХОДИТ, КОГДА ТЕЛОМЕРЫ УКОРАЧИВАЮТСЯ?

В теории маргинотомии Оловникова было предложено, что триггером к остановке делений и смерти клеток является затрагивание субтеломерных генов, критических для функционирования клетки. Это предположение в прямом виде не было подтверждено, что послужило одним из пунктов, подтолкнувших Оловникова к созданию новой гипотезы старения. Тем не менее при концевой недорепликации происходит укорочение ДНК, и это имеет явные физиологические последствия. Какова же связь между этими явлениями? На данный момент мы можем ясно видеть по крайней мере три различных механизма воздействия укорачивания теломер на клетки, которые в общем виде не совпадают между собой.

Теломерный эффект положения. В 2001 г. впервые был описан эффект изменения экспрессии генов, расположенных рядом с теломерой при изменении ее длины [68]. В качестве объяснения предлагалась гипотеза «гетерохроматинового чулка», который в общем виде можно описать следующим образом: теломерные последовательности имеют особую хроматиновую упаковку и особые эпигенетические

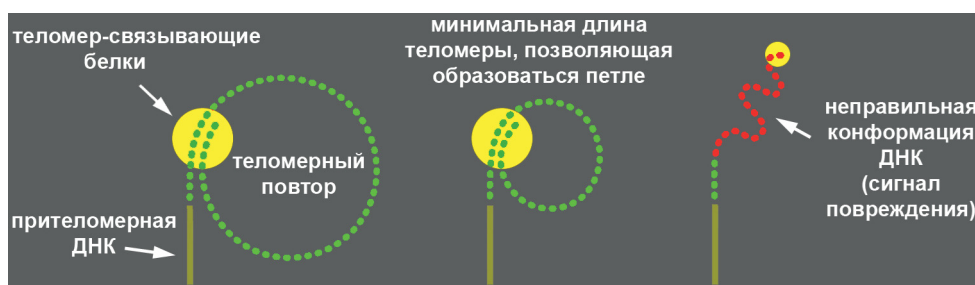


Рис. 3. Гипотеза петлевого строения теломер. Теломерная ДНК вместе с теломер-связывающими белками может формировать петли. В силу ограничения свободного вращения ДНК и взаимодействия с разнообразными белками ДНК в петле имеет напряженную конформацию. При укорачивании теломерной ДНК наступает момент, когда длина теломерного повтора не позволяет образоваться петле. Теломерный конец ДНК приобретает свободную конформацию, которая воспринимается клеткой как сигнал повреждения

изменения, и действие этой упаковки распространяется на близлежащие гены.

Позже был описан аналогичный эффект, но уже на отдаленно расположенные гены [69, 70]. Здесь предполагается похожее объяснение: теломеры влияют на экспрессию генов, расположенных в пространстве рядом с ними, в результате образования хромосомной петли.

Многолетние исследования теломерного эффекта положения пока не выглядят очень убедительными, хотя ряд находок вызывает большой интерес. Например, ген *hTERT* подвержен теломерному эффекту положения, что открывает целый ряд гипотетических механизмов, как длина теломер может поддерживаться при старении и раке [71]. Описано по крайней мере три механизма регуляции экспрессии *hTERT* с помощью образования хроматиновых или теломерных петель [72]. Наконец, нельзя не отметить то, что при укорачивании теломер усиливается экспрессия гена *ISG15* (interferon stimulated gene 15), который способен усиливать воспаление, стимулируя продукцию $IFN\gamma$ [69]. Таким образом, возникает прямая связь между старением и воспалением, что свидетельствует в пользу теории воспалительного старения (inflammaging).

Появление сигнала повреждения ДНК.

После критического укорачивания теломер возникает сигнал повреждения ДНК. Клетки человека останавливают пролиферацию при средней длине теломер в несколько тысяч нуклеотидов (то есть отнюдь не полном их укорочении) и переходят в особое состояние, которое в англоязычной литературе называют «cell senescence». На русском языке это явление можно называть клеточной сенильностью, чтобы отличать от старения клеток (cell aging).

Вероятно, существует некая минимальная длина теломеры, позволяющая правильно упаковать конец хромосомы так, чтобы он отличался от разрыва ДНК. Еще в 1997 г. — за два года до обнаружения теломерных петель [24] — мы предположили гипотезу о петлевой структуре теломер [73] (рис. 3).

Существует большая гетерогенность по длине теломер не только между клетками, но и в пределах одной клетки. Поэтому критическое укорочение, которое вызывает ответ на повреждение ДНК (DNA damage response, DDR), обычно касается лишь небольшой части теломер. Этого оказывается достаточно для индукции клеточной сенильности [74, 75].

При этом в большинстве исследований длины теломер в основном фигурируют данные о некоей средней длине теломер. Такие измерения делают с помощью разных методов:

Саузерн-блот-анализа рестрикционных фрагментов, ПЦР, цифрового ПЦР, количественного FISH, FISH-цитометрии. Изредка применяют более сложные методы, позволяющие фиксировать длины отдельных, в том числе самых коротких, теломер (STELA, TeSLA) [76–78]. Развитие технологии уже позволяет секвенировать длинные последовательности, в том числе индивидуальные теломеры [79].

Наличие критически укороченных теломер и средняя длина теломер не являются жестко связанными величинами. Также стоит отметить, что в подавляющем большинстве геронтологических исследований измеряют теломеры белых клеток крови, что также вносит дополнительные неясности [80].

Существуют прямые доказательства того, что клеточная сенильность возникает в результате появления сигналов DDR от теломер [81]. При этом сигнал должен быть длительным, что говорит о том, что ДНК не может быть репарируема [82]. Было доказано, что одного двуцепочечного разрыва ДНК (если он не репарирован) достаточно для индукции сенильности [83].

Понятие клеточной сенильности за последние 60 лет меняло свое значение, и до сих пор значение этого термина не устоялось [84]. Высказывают даже мнение о необходимости замены термина [85]. Сначала термин употреблялся только для обозначения клеток, достигших предела Хейфлика, потом его распространили на клетки с повреждением ДНК в целом [86]. Появился термин онкоген-индуцированная сенильность и далее другие, уже не связанные с ДНК. В 2019 г. ведущие ученые договорились о том, что именно стоит считать сенильностью [87], и возникло следующее определение: «Клеточная сенильность — это состояние клетки, вызванное стрессовыми воздействиями и определенными физиологическими процессами, характеризующееся длительной и в целом необратимой остановкой клеточного цикла с изменениями секреции, макромолекулярными повреждениями и измененным метаболизмом». Пытаясь объяснить все разнородные явления, такое определение выглядит слишком общим и не улучшает нашего понимания сути процесса.

Упрощая, можно определить **сенильность как неэффективный ответ клетки на любое нарушение**. Исходя из такого определения становится понятным, почему до сих пор не найдено уникальных (характерных только для сенильности) признаков [88]. Ясно, что и сложное, и упрощенное определение можно применить к любым клеткам, в том числе постмитотическим и раковым.

Сложность определения клеточной сенильности усугубляется еще и тем, что сенильный фенотип зависит от исходного типа клеток и меняется во времени; происходит углубление сенильности, включаются разные механизмы [89, 90]. В последнее время описывают очень интересное явление: усиление активности эндогенных ретротранспозонов в процессе сенильности [91–93]. Скорее всего, сигналом к этому являются эпигенетические изменения [94]. В результате активации ретроэлементов, помимо увеличения генетической изменчивости, происходит активация систем врожденного иммунитета и развивается воспаление [95, 96].

Вначале сенильность является целиком внутриклеточным процессом. В своем развитии он приобретает специфический секреторный фенотип (senescence associated secretory phenotype, SASP). Клетка начинает воздействовать на жизнь соседних клеток и далее — всего организма. Каким-то образом в развитии клеточной сенильности начинают участвовать митохондрии, возможно, посредством редокс-регуляции [97, 98].

В сенильных клетках усиливается устойчивость к апоптозу, происходит сдвиг метаболизма в пользу гликолиза, повышается продукция активных форм кислорода. SASP включает в себя DAMPs (damage associated molecular patterns), различные провоспалительные цитокины и хемокины, привлекающие иммунные клетки, а также протеазы, изменяющие внеклеточный матрикс и др. [99, 100].

Резкое усиление генетической нестабильности. Теломерные слияния и их последствия. Третий механизм воздействия укорочения теломер на судьбу клетки наиболее сложен и ведет к резкому росту генетической нестабильности. Этот механизм является одним из способов образования бессмертных раковых клеток. Механизм начинает работать только в частично трансформированных клетках, в которых по какой-то причине не срабатывает обычный механизм остановки пролиферации по достижении предела Хейфлика. Такие клетки, несмотря на укорочение теломер, продолжают пролиферацию и могут делиться еще десятки раз до достижения так называемого теломерного или репликативного кризиса. Примерно 30 лет назад было теоретически постулировано существование двух барьеров, которые необходимо преодолеть нормальной клетке для достижения репликативного бессмертия: это клеточная сенильность (M1) и теломерный кризис (M2) [101].

Экспериментальное исследование теломерного кризиса проводят на клетках, в которых подавлена активность p53 или pRb. Например, в работе 2023 г. [102] это делали с помощью введения в нормальные фибробласты генетических конструкций, кодирующих антигены папилломавируса человека E6 и E7 или большой антиген SV40. Такие клетки обладают повышенным пролиферативным потенциалом, в течение которого теломеры продолжают укорачиваться; после этого клетки начинают массово погибать, но продолжают делиться. Исходом эксперимента может стать либо полная гибель клеток, либо появление репликативно бессмертного клона, чаще всего с реактивацией гена *hTERT*. Как показывают последние исследования, клетки в процессе кризиса подвергаются аутофагической гибели [103].

Если лимит Хэйфлика преодолен в результате инактивации механизмов остановки клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК, системы исправления повреждений ДНК продолжают работать. При продолжающейся недорепликации идет накопление повреждений ДНК, и в какой-то момент возникают варианты репарации неправильных концов ДНК с помощью теломерных слияний.

Слиянию могут подвергаться либо разные хромосомы, либо сестринские хроматиды. В последующем митозе эти дицентрики либо неправильно сегрегируют, либо разрываются. Возникает последовательность событий, называемая «слияние-мост-разрыв» (рис. 4).

Она может многократно повторяться. В результате таких на первый взгляд простых процессов могут образовываться самые разнообразные мутации [104].

1. Анеуплоидии — нехватка или приобретение хромосомы.
2. Нерцепирующие транслокации в результате индуцированной разрывом репликации.
3. Потеря гетерозиготности (Loss of Heterozygosity, LOH) в результате терминальной делеции. Может закрепляться в геноме раковых клеток из-за потери генов опухолевых супрессоров.
4. Общее увеличение пloidности.
5. При слиянии хроматид может происходить локальная амплификация с последующим образованием гомогенно окрашенного района (HSR) или двойных минутных хромосом (DM-хромосом).
6. Хромотрипсис — десятки перестроек в пределах одного сегмента хромосомы. Образуется, когда при разрыве ядерной оболочки фрагмент хромосомы оказывается

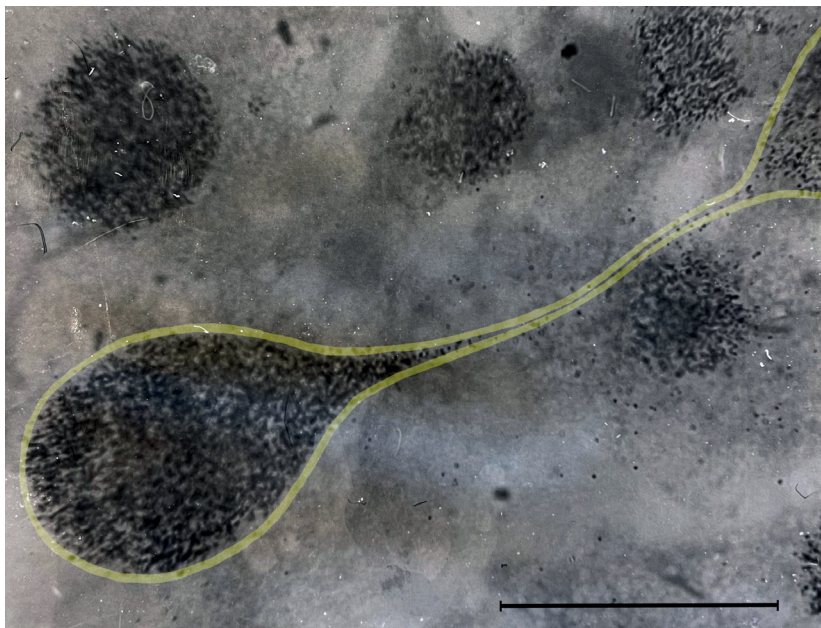


Рис. 4. Хромосомный мост в клетках 3T3Swiss. Клетка (клетки) напоминают сиамских близнецов. Митоз давно кончился (хромосом не видно) и ядра (клетки) начали движение друг от друга, при этом ядро (да и сами клетки) не отделились друг от друга (желтым обведено неразделившееся ядро). ДНК клеток была предварительно помечена ^3H -тимидином. Радиоавтография. Масштабная линейка – 20 мкм. Фото автора

в цитоплазме и сильно фрагментируется под влиянием экзонуклеазы TREX1.

7. Катаегис – редактирование фрагментов ДНК, образованных в процессе хромотрипсиса, за счет дезаминазы APOBEC3, которая превращает цитозиновые остатки в урацил. Работа этих ферментов в норме ограничивает инфекцию ДНК- и РНК-вирусов.

В процессе разрыва «моста» ДНК в его середине сильно вытягивается, она лишена нуклеосом [105]. После разрыва ядерной оболочки ДНК оказывается мишенью цитоплазматических нуклеаз и дезаминаз. В последние годы стало ясно, что в эти процессы вовлечены компоненты врожденного иммунитета, ответственные за противовирусную защиту. При появлении ДНК в цитоплазме активируется путь cGAS/STING, индуцирующий ZBP1 (Z-ДНК связывающий белок 1), который соединяется с транскриптом TERRA, количество которого растет при дисфункции теломер. Комплексы TERRA/ZBP1 олигомеризуются в виде филаментов на поверхности внешней митохондриальной мембраны, где они способствуют образованию MAVS (митохондриальный антивирусный сигнальный комплекс). Начинается интерфероновый ответ [102]. В конце концов сильно поврежденная ДНК с однонитевыми разрывами включается в состав ядра, что приводит к явлениям хромотрипсиса и катаегиса.

Подробности процессов перестройки хромосом и теломерного кризиса слишком обширны и не являются предметом этого обзора. Хочется подчеркнуть, однако, что при исследовании самых разнообразных раковых клеток с той или иной частотой находят следы вышеописанных событий. Так, проявляется участие теломер с нарушенной функцией в канцерогенезе [106–113].

Итак, мы видим, что укорачивание теломер (отсутствие теломеразной активности) ведет к появлению сенильных клеток, что способствует старению как местно (уменьшается функциональность тканей), так и генерализованно (развитие воспалительного старения во всем организме). Те же процессы способствуют росту генетической изменчивости, являющейся важной частью канцерогенеза. Давно замечено, что несмотря на теломеразную активность, раковые клетки обычно имеют укороченные теломеры [114]. Существует гипотеза, что раковым клеткам выгодно поддерживать короткие теломеры, чтобы обеспечивать повышенный уровень генетической нестабильности.

ТЕЛОМЕРАЗА, ОМОЛОЖЕНИЕ (ОЗДОРОВЛЕНИЕ) И РАК

Поскольку теломераза предотвращает клеточную сенильность, вызванную недорепли-

кацией, а также обеспечивает возможность клеточной пролиферации для поддержания нормального функционирования тканей, уже давно рассматривалось ее использование в терапевтических целях для омоложения (оздоровления). В последние десятилетия идет постепенное замещение понятия удлинения жизни (lifespan) на удлинение здоровой жизни (healthspan) как целевого показателя, на который направляются усилия ученых и медиков. В вопросе использования теломеразы главным аспектом является безопасность.

С одной стороны, экспрессия теломеразы не обязательно ведет к изменениям, связанным с раком [115, 116], и многие нормальные (не раковые) клетки обладают теломеразной активностью. Это клетки развивающегося эмбриона, различные стволовые клетки и предшественники, клетки половой линии у мужчин. В начале века Кальвин Харли, желая подчеркнуть безопасность теломеразы, написал статью под названием «Теломераза – не онкоген» [117].

С другой стороны, активация теломеразы является наиболее общим признаком раковых клеток (около 90%), и в связи с этим, чисто феноменологически, мы ее должны отнести к онкогенам [118]. Активация теломеразы в процессе канцерогенеза происходит разными путями: это мутации промотора *hTERT*, геномные перестройки и амплификация гена. Есть позиции внутри промотора, которые чаще всего подвергаются изменениям [119]. Мутации в промоторе *hTERT* являются самыми частыми некодирующими мутациями в раковых клетках человека [120]. В тканях с медленным самообновлением клеток (опухоль центральной нервной системы, печени и меланоциты) мутации промотора *hTERT* встречаются чаще и появляются раньше, чем в опухолях кишечника и крови [121–123].

Вирус гепатита В (HBV) способен встраиваться в геном рядом с промотором *hTERT* и усиливать его экспрессию [124]. В нейробластомах часто наблюдают геномные перестройки, усиливающие экспрессию *hTERT* [125, 126]. В опухолях яичника и аденокарциномах легких наблюдают амплификации *hTERT* [127].

Помимо функциональной связи теломеразы с раком, а именно частым приобретением раковыми клетками теломеразной активности, описаны различные неканонические активности теломеразы, не связанные с поддержанием теломер, но так или иначе выгодные раковым клеткам [128, 129].

Известно, что раковая клетка должна иметь ряд изменений, одним из которых явля-

ется иммортализация. В стареющем организме имеется немало клеток, в которых уже произошли многие предраковые изменения, и этим клеткам не хватает лишь бессмертия. Экспрессия теломеразы позволяет пройти этот этап и превратить их в настоящие раковые клетки. Следовательно, массовое обретение многими клетками нерегулируемой теломеразной активности явно опасно.

Известно, что для раковых клеток характерна высокая теломеразная активность и злокачественность опухоли коррелирует с уровнем активности теломеразы [130, 131], а уровень активности может различаться в сотни раз [132]. Можно предположить, что если активность теломеразы будет сравнительно низкая или непостоянная, то она будет лишь «исцелять» дисфункциональные, критически укороченные теломеры, тем самым снижая DDR и SASP и уменьшая воспаление, но не обеспечивая возможность долгосрочного роста [133]. Защитный эффект теломеразы в условиях окислительного стресса также, скорее всего, полезен [61, 134–135].

Как можно оценить возможные позитивные результаты активации теломеразы на здоровье? При внедрении гена теломеразы стареющим мышам с помощью адено-ассоциированных вирусов были достигнуты значительные результаты в улучшении биомаркеров, ассоциированных со старением [136]. Аналогичный результат на мышах был достигнут теми же авторами с использованием низкомолекулярного активатора теломеразы TA-65 вместо AAV9 [137].

TA-65 – это натуральный продукт, полученный из традиционного китайского лекарственного растения (астрагала). Экстракты этого растения использовались на протяжении веков без сообщений о побочных эффектах. Дозировку препарата легко контролировать, и он является довольно слабым активатором теломеразы. В испытаниях на людях недавно было показано, что TA-65 улучшает основные маркеры риска сердечно-сосудистых заболеваний – ведущей причины смертности в развитых странах. Уровень TNF плазмы также снижался. Авторы делают вывод, что произошли изменения, связанные с уменьшением воспаления [138]. Также снижение воспаления и нормализация лимфоцитарного профиля были показаны в другом длительном испытании TA-65, проведенном на возрастных пациентах после инфаркта [139].

Снижение воспаления приобретает все большее значение по ходу развития старения [140, 141]. Поэтому воздействия, направ-

ленные на блокировку воспалительного старения, могут быть оправданы.

В последние годы особый интерес вызывает экзосомный путь межклеточной коммуникации. Было показано, что через экзосомы клетки могут передавать транскрипты *hTERT*, которые делают клетки-доноры на время теломеразо-положительными [142, 143].

Помимо двух известных способов поддержания теломер (теломеразо-зависимого и альтернативного), недавно был открыт способ прямой передачи теломер от клетки к клетке в процессе развития иммунного ответа [144]. При контакте с Т-лимфоцитом в антиген-презентирующей клетке происходит деградация шелтерина и отрезание теломер при участии фактора TZAP. После этого теломеры вместе с Rad51 (необходим для рекомбинации) упаковываются в везикулы, которые посредством иммунологического синапса передаются Т-лимфоциту. В результате теломеры Т-лимфоцита удлиняются в среднем на 3000 пар оснований, а у презентирющей клетки – укорачиваются. Возможное освоение прямой передачи теломер в медицине откроет новые возможности для борьбы со старением иммунной системы, повышения эффективности вакцинации, а в будущем – для разработки новых технологий клеточного омоложения, в частности, клеток сосудистой стенки. Также вышедший из моды вопрос о применении теломеразы для лечения патологий, связанных со старением, требует дальнейшего изучения, и, возможно, нас ждет вторая и более успешная волна интереса к этому важнейшему ферменту [80, 145].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

История исследований теломеразы, начавшихся с предсказания существования фермента А.М. Оловниковым в 1971 г., продолжается.

Проблема недорепликации, как ее называли ранее, на самом деле, видимо, является

не столько проблемой, сколько механизмом, адаптированным в результате эволюции для контроля судьбы отдельных клеток в организме. На сегодняшний день известны три способа поддержания теломер у человека: теломеразный, альтернативный и прямой перенос теломерной ДНК. Все три способа организм применяет в нормальном развитии. Ограничения, связанные с подавлением теломеразы в развитии, носят превентивный характер и связаны с защитой от рака. В тех случаях, когда эти ограничения мешают нормальному функционированию, организм ограниченно применяет активацию теломеразы (в стволовых клетках и некоторых клетках-предшественниках) – альтернативный способ удлинения теломер (в эмбриогенезе, до имплантации). Когда требуется сверхсрочное увеличение пролиферативного потенциала лимфоцитов, существует способ прямой передачи теломер, обеспечивающий необходимую скорость работы иммунной системы.

В процессе старения организма все большую роль играет возрастание стерильного воспаления. Видна прямая связь между состоянием теломер и активацией иммунной противовирусной защиты. То, что когда-то называли репликомером (укорачивание теломер как счетчик количества пройденных делений), оказалось частью сложного механизма, во многом определяющего состояние нашего здоровья и увеличивающего свое значение с возрастом.

Благодарности. Выражаю благодарность И.А. Оловникову за редакторскую правку рукописи.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Muller, H. J. (1938) The remaking of chromosomes, *Coll. Net.*, **8**, 182-195.
2. McClintock, B. (1938) The fusion of broken ends of sister half-chromatids following chromatid breakage at meiotic anaphases, *Missouri Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, **290**, 1-48.
3. McClintock, B. (1939) The behavior in successive nuclear divisions of a chromosome broken at meiosis, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **25**, 405-416, doi: 10.1073/pnas.25.8.405.
4. McClintock, B. (1941) The stability of broken ends in zea mays, *Genetics*, **26**, 234-282, doi: 10.1093/genetics/26.2.234.
5. Вильсон Э. (1936) Клетка и ее роль в развитии и наследственности, М.-Л. ГИБМЛ, стр. 211-212.

6. Carrel, A. (1912) On the permanent life of tissues outside of the organism, *J. Exp. Med.*, **15**, 516-528, doi: 10.1084/jem.15.5.516.
7. Hayflick, L., and Moorhead, P. S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, **25**, 585-621, doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.
8. Hayflick, L. (1998) *Conference: Telomeres and Telomerase: Implications for Cell Immortality, Cancer, and Age Related Disease*, California.
9. Benveniste, G. L. (2013) Alexis Carrel: the good, the bad, the ugly, *ANZ J. Surg.*, **83**, 609-611, doi: 10.1111/ans.12167.
10. Dutkowski, P., de Rougemont, O., and Clavien, P.-A. (2008) Alexis Carrel: genius, innovator and ideologist, *Am. J. Transplant.*, **8**, 1998-2003, doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02364.x.
11. Carrel, A. (1939) *Man, the Unknown*, New York: Harper & Brothers.
12. Оловников А. М. (1971) Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов, *Докл. Акад. Наук*, **201**, 1496-1499.
13. Greider, C. W., and Blackburn, E. (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts, *Cell*, **43**, 405-413, doi: 10.1016/0092-8674(85)90170-9.
14. Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1996) Telomeres, Telomerase and Cancer, *Sci. Am.*, **274**, 92-97, doi: 10.1038/scientificamerican0296-92.
15. Оловников А. М. (1992) Старение есть результат укорочения «дифферотены» в теломере из-за концевой недорепликации и недорепарации ДНК, *Известия АН СССР. Сер. Биол.*, **4**, 641-643.
16. Olovnikov, A. M. (1995) The role of incomplete terminal repair of chromosomal DNA in the aging of neurons and postmitotic organisms [in Russian], *Biol. Bull.*, **4**, 504-507.
17. Von Zglinicki, T., Saretzki, G., Docke, W., and Lotze, C. (1995) Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Exp. Cell Res.*, **220**, 186-193, doi: 10.1006/excr.1995.1305.
18. Von Zglinicki, T. (2002) Oxidative stress shortens telomeres, *Trends Biochem. Sci.*, **27**, 339-344, doi: 10.1016/S0968-0004(02)02110-2.
19. Оловников А. М. (2003) Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии, *Биохимия*, **68**, 7-41.
20. Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
21. Doksani, Y. (2019) The response to DNA damage at telomeric repeats and its consequences for telomere function, *Genes*, **10**, 318, doi: 10.3390/genes10040318.
22. Runnberg, R., Narayanan, S., Itriago, H., and Cohn, M. (2019) Either Rap1 or Cdc13 can protect telomeric single-stranded 3' overhangs from degradation *in vitro*, *Sci. Rep.*, **9**, 19181, doi: 10.1038/s41598-019-55482-3.
23. Burge, S., Parkinson, G. N., Hazel, P., Todd, A. K., and Neidle, S. (2006) Quadruplex DNA: sequence, topology and structure, *Nucleic Acids Res.*, **34**, 5402-5415, doi: 10.1093/nar/gkl655.
24. Griffith, J. D., Comeau, L., Rosenfield, S., Stansel, R. M., Bianchi, A., Moss, H., and De Lange, T. (1999) Mammalian telomeres end in a large duplex loop, *Cell*, **97**, 503-514, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80760-6.
25. De Lange, T. (2018) Shelterin-mediated telomere protection, *Annu. Rev. Genet.*, **52**, 223-247, doi: 10.1146/annurev-genet-032918-021921.
26. De Lange, T. (2018) What I got wrong about shelterin, *J. Biol. Chem.*, **293**, 10453-10456, doi: 10.1074/jbc.AW118.003234.
27. Azzalin, C. M., Reichenbach, P., Khoriauli, L., Giulotto, E., and Lingner, J. (2007) Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends, *Science*, **318**, 798-801, doi: 10.1126/science.1147182.
28. Porro, A., Feuerhahn, S., Delafontaine, J., Riethman, H., Rougemont, J., and Lingner, J. (2014) Functional characterization of the TERRA transcriptome at damaged telomeres, *Nat. Commun.*, **5**, 5379, doi: 10.1038/ncomms6379.
29. Kwapisz, M., and Morillon, A. (2020) Subtelomeric transcription and its regulation, *J. Mol. Biol.*, **432**, 4199-4219, doi: 10.1016/j.jmb.2020.01.026.
30. Feretzaki, M., Nunes, P. R., and Lingner, J. (2019) Expression and differential regulation of human TERRA at several chromosome ends, *RNA*, **25**, 1470-1480, doi: 10.1261/rna.072322.119.
31. Montero, J. J., de Silanes, I., Graña, O., and Blasco, M. A. (2016) Telomeric RNAs are essential to maintain telomeres, *Nat. Commun.*, **7**, 12534, doi: 10.1038/ncomms12534.
32. Bettin, N., Pegorar, C., and Cusanelli, E. (2019) The emerging roles of TERRA in telomere maintenance and genome stability, *Cells*, **8**, E246, doi: 10.3390/cells8030246.
33. Koskas, S., Decottignies, A., Dufour, S., Pezet, M., Verdel, A., Vourc'h, C., and Faure, V. (2017) Heat shock factor 1 promotes TERRA transcription and telomere protection upon heat stress, *Nucleic Acids Res.*, **45**, 6321-6333, doi: 10.1093/nar/gkx208.
34. Galigniana, N. M., Charó, N. L., Uranga, R., Cabanillas, A. M., and Piwien-Pilipuk, G. (2020) Oxidative stress induces transcription of telomeric repeat-containing RNA (TERRA) by engaging PKA signaling and cytoskeleton dynamics, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.*, **1867**, 118643, doi: 10.1016/j.bbamcr.2020.118643.
35. Le Berre, G., Hossard, V., Riou, J.-F., and Guieysse-Peugeot, A.-L. (2019) Repression of TERRA expression by subtelomeric DNA methylation is dependent on NRF1 binding, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, E2791, doi: 10.3390/ijms20112791.

36. Wang, Z., Deng, Z., Dahmane, N., Tsai, K., Wang, P., Williams, D. R., Kossenkov, A. V., Showe, L. C., Zhang, R., Huang, Q., Conejo-Garcia, J. R., and Lieberman, P. M. (2015) Telomeric repeat-containing RNA (TERRA) constitutes a nucleoprotein component of extracellular inflammatory exosomes, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **112**, E6293-E6300, doi: 10.1073/pnas.1505962112.
37. Aguado, J., Sola-Carvajal, A., Cancila, V., Revêchon, G., Ong, P. F., Jones-Weinert, C. W., Wallén Arzt, E., Lattanzi, G., Dreesen, O., Tripodo, C., Rossiello, F., Eriksson, M., and d'Adda di Fagagna, F. (2019) Inhibition of DNA damage response at telomeres improves the detrimental phenotypes of Hutchinson–Gilford progeria syndrome, *Nat. Commun.*, **10**, 4990, doi: 10.1038/s41467-019-13018-3.
38. Kroupa, M., Tomasova, K., Kavec, M., Skrobánek, P., Buchler, T., Kumar, R., Vodickova, L., and Vodicka, P. (2022) Telomeric repeat-containing RNA (TERRA): physiological functions and relevance in cancer, *Front. Oncol.*, **12**, 913314, doi: 10.3389/fonc.2022.913314.
39. Chebly, A., Ropio, J., Baldasseroni, L., Prochazkova-Carlotti, M., Idrissi, Y., Ferrer, J., Farra, C., Beylot-Barry, M., Merlio, J.-P., and Chevret, E. (2022) Telomeric repeat-containing RNA (TERRA): a review of the literature and first assessment in cutaneous T-cell lymphomas, *Genes*, **13**, 539, doi: 10.3390/genes13030539.
40. Pérez-Martínez, L., Wagner, T., and Luke, B. (2022) Telomere interacting proteins and TERRA regulation, *Front. Genet.*, **13**, 872636, doi: 10.3389/fgene.2022.872636.
41. Bhargava, R., Lynskey, M. L., and O'Sullivan, R. J. (2022) New twists to the ALternative endings at telomeres, *DNA Repair (Amst)*, **115**, 103342, doi: 10.1016/j.dnarep.2022.103342.
42. Fernandes, R. V., Feretzaki, M., and Lingner, J. (2021) The makings of TERRA R-loops at chromosome ends, *Cell Cycle*, **20**, 1745-1759, doi: 10.1080/15384101.2021.1962638.
43. Smith, E. M., Pendlebury, D. F., and Nandakumar, J. (2020) Structural biology of telomeres and telomerase, *Cell. Mol. Life Sci.*, **77**, 61-79, doi: 10.1007/s00018-019-03369-x.
44. Roake, C. M., and Artandi, S. E. (2020) Regulation of human telomerase in homeostasis and disease, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **21**, 384-397, doi: 10.1038/s41580-020-0234-z.
45. Liu, X., Wang, Y., Chang, G., Wang, F., Wang, F., and Geng, X. (2017) Alternative splicing of hTERT Pre-mRNA: a potential strategy for the regulation of telomerase activity, *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 567, doi: 10.3390/ijms18030567.
46. Jeung, H. C., Rha, S. Y., Shin, S. J., Ahn, J. B., Park, K. H., Kim, T. S., Kim, J. J., Roh, J. K., and Chung, H. C. (2017) Changes in telomerase activity due to alternative splicing of human telomerase reverse transcriptase in colorectal cancer, *Oncol. Lett.*, **14**, 2385-2392, doi: 10.3892/ol.2017.6438.
47. Ludlow, A. T., Slusher, A. L., and Sayed, M. E. (2019) Insights into telomerase/hTERT alternative splicing regulation using bioinformatics and network analysis in cancer, *Cancers*, **11**, 666, doi: 10.3390/cancers11050666.
48. Ramlee, M. K., Wang, J., Toh, W. X., and Li, S. (2016) Transcription regulation of the human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene, *Genes*, **7**, 50, doi: 10.3390/genes7080050.
49. Daniel, M., Peek, G. W., and Tollefsbol, T. O. (2012) Regulation of the human catalytic subunit of telomerase (hTERT), *Gene*, **498**, 135-146, doi: 10.1016/j.gene.2012.01.095.
50. Leão, R., Apolónio, J. D., Lee, D., Figueiredo, A., Tabori, U., and Castelo-Branco, P. (2018) Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: clinical impacts in cancer, *J. Biomed. Sci.*, **25**, 22, doi: 10.1186/s12929-018-0422-8.
51. Abreu, E., Terns, R. M., and Terns, M. P. (2017) Visualization of human telomerase localization by fluorescence microscopy techniques, *Adv. Struct. Saf. Stud.*, **1587**, 113-125, doi: 10.1007/978-1-4939-6892-3_11.
52. Venteicher, A. S., and Artandi, S. E. (2009) TCAB1: driving telomerase to Cajal bodies, *Cell Cycle*, **8**, 1329-1331, doi: 10.4161/cc.8.9.8288.
53. Nguyen, K. T. T. T., and Wong, J. M. Y. (2020) Telomerase biogenesis and activities from the perspective of its direct interacting partners, *Cancers*, **12**, 1679, doi: 10.3390/cancers12061679.
54. González-Suárez, E., Samper, E., Ramírez, A., Flores, J. M., Martín-Caballero, J., Jorcano, J. L., and Blasco, M. A. (2001) Increased epidermal tumors and increased skin wound healing in transgenic mice overexpressing the catalytic subunit of telomerase, mTERT, in basal keratinocytes, *EMBO J.*, **20**, 2619-2630, doi: 10.1093/emboj/20.11.2619.
55. Chen, K.-H., Guo, Y., Li, L., Qu, S., Zhao, W., Lu, Q.-T., Mo, Q.-Y., Yu, B.-B., Zhou, L., Lin, G.-X., Sun, Y.-C. and Zhu, X.-D. (2018) Cancer stem cell-like characteristics and telomerase activity of the nasopharyngeal carcinoma radioresistant cell line CNE-2R, *Cancer Med.*, **7**, 4755-4764, doi: 10.1002/cam4.1729.
56. Walter, M., Davies, J. P., and Ioannou, Y. A. (2003) Telomerase immortalization upregulates Rab9 expression and restores LDL cholesterol egress from Niemann–Pick C1 late endosomes, *J. Lipid Res.*, **44**, 243-253, doi: 10.1194/jlr.M200230-JLR200.
57. Bagheri, S., Nosrati, M., Li, S., Fong, S., Torabian, S., Rangel, J., Moore, D. H., Federman, S., Laposa, R. R., Baehner, F. L., Sagebiel, R. W., Cleaver, J. E., Haqq, C., Debs, R. J., Blackburn, E. H., and Kashani-Sabet, M. (2006) Genes and pathways downstream

- of telomerase in melanoma metastasis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11306-11311, doi: 10.1073/pnas.0510085103.
58. Liu, Z., Li, Q., Li, K., Chen, L., Li, W., Hou, M., Liu, T., Yang, J., Lindvall, C., Björkholm, M., Jia, J., and Xu, D. (2013) Telomerase reverse transcriptase promotes epithelial–mesenchymal transition and stem cell-like traits in cancer cells, *Oncogene*, **32**, 4203-4213, doi: 10.1038/onc.2012.441.
 59. Ghosh, A., Saginc, G., Leow, S. C., Khattar, E., Shin, E. M., Yan, T. D., Wong, M., Zhang, Z., Li, G., Sung, W.-K., Zhou, J., Chng, W. J., Li, S., Liu, E., and Tergaonkar, V. (2012) Telomerase directly regulates NF- κ B-dependent transcription, *Nat. Cell Biol.*, **14**, 1270-1281, doi: 10.1038/ncb2621.
 60. Chen, K., Chen, L., Li, L., Qu, S., Yu, B., Sun, Y., Wan, F., Chen, X., Liang, R., and Zhu, X. (2020) A positive feedback loop between Wnt/ β -catenin signaling and hTERT regulates the cancer stem cell-like traits in radioresistant nasopharyngeal carcinoma cells, *J. Cell. Biochem.*, **121**, 4612-4622, doi: 10.1002/jcb.29681.
 61. Rosen, J., Jakobs, P., Ale-Agha, N., Altschmied, J., and Haendeler, J. (2020) Non-canonical functions of Telomerase Reverse Transcriptase—Impact on redox homeostasis, *Redox Biol.*, **34**, 101543, doi: 10.1016/j.redox.2020.101543.
 62. Zhang, Q., Wang, H. Y., Woetmann, A., Raghunath, P. N., Odum, N., and Wasik, M. A. (2006) STAT3 induces transcription of the DNA methyltransferase 1 gene (DNMT1) in malignant T lymphocytes, *Blood*, **108**, 1058-1064, doi: 10.1182/blood-2005-08-007377.
 63. Maida, Y., Yasukawa, M., Furuuchi, M., Lassmann, T., Possemato, R., Okamoto, N., Kasim, V., Hayashizaki, Y., Hahn, W. C., and Masutomi, K. (2009) An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA, *Nat. Cell Biol.*, **461**, 230-235, doi: 10.1038/nature08283.
 64. Ridanpää, M., Van Eenennaam, H., Pelin, K., Chadwick, R., Johnson, C., Yuan, B., Vanvenrooij, W., Pruijn, G., Salmela, R., Rockas, S., Mäkitie, O., Kaitila, I., and de la Chapelle, A. (2001) Mutations in the RNA component of RNase MRP cause a pleiotropic human disease, cartilage-hair hypoplasia, *Cell*, **104**, 195-203, doi: 10.1016/s0092-8674(01)00205-7.
 65. Sharma, N. K., Reyes, A., Green, P., Caron, M. J., Bonini, M. G., Gordon, D. M., Holt, I. J., and Santos, J. H. (2011) Human telomerase acts as a hTR-independent reverse transcriptase in mitochondria, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 712-725, doi: 10.1093/nar/gkr758.
 66. Чернов Д. Н., Егоров Е. Е., Акимов С. С. (1996) Теломеразная активность клеток мышцы при спонтанной трансформации, *Докл. Акад. Наук*, **349**, 121-123.
 67. Lue, N. F., Bosoy, D., Moriarty, T. J., Autexier, C., Altman, B., and Leng, S. (2005) Telomerase can act as a template- and RNA-independent terminal transferase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 9778-9783, doi: 10.1073/pnas.0502252102.
 68. Baur, J. A., Zou, Y., Shay, J. W., and Wright, W. E. (2001) Telomere position effect in human cells, *Science*, **292**, 2075-2077, doi: 10.1126/science.1062329.
 69. Lou, Z., Wei, J., Riethman, H., Baur, J. A., Voglauer, R., Shay, J. W., and Wright, W. E. (2009) Telomere length regulates ISG15 expression in human cells, *Aging*, **1**, 608-621, doi: 10.18632/aging.100066.
 70. Stadler, G., Rahimov, F., King, O. D., Chen, J. C., Robin, J. D., Wagner, K. R., Shay, J. W., Emerson, C. P., Jr., and Wright, W. E. (2013) Telomere position effect regulates DUX4 in human facioscapulohumeral muscular dystrophy, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **20**, 671-678, doi: 10.1038/nsmb.2571.
 71. Kim, W., Ludlow, A. T., Min, J., Robin, J. D., Stadler, G., Mender, I., Lai, T. P., Zhang, N., Wright, W. E., and Shay, J. W. (2016) Regulation of the human telomerase gene TERT by Telomere Position Effect-Over Long Distances (TPE-OLD): implications for aging and cancer, *PLoS Biol.*, **14**, e2000016, doi: 10.1371/journal.pbio.2000016.
 72. Sharma, S., and Chowdhury, S. (2022) Emerging mechanisms of telomerase reactivation in cancer, *Trends Cancer*, **8**, 632-641, doi: 10.1016/j.trecan.2022.03.005.
 73. Yegorov, Y. E., Chernov, D. N., Akimov, S. S., Akhmalisheva, A. K., Smirnova, Y. B., Shinkarev, D. B., Semenova, I. V., Yegorova, I. N., and Zelenin, A. V. (1997) Blockade of telomerase function by nucleoside analogs, *Biochemistry (Moscow)*, **62**, 1296-1305.
 74. Harley, C. B. (2008) Telomerase and cancer therapeutics, *Nat. Rev. Cancer*, **8**, 167-179, doi: 10.1038/nrc2275.
 75. Lansdorp, P. (2022) Telomere length regulation, *Front. Oncol.*, **12**, 943622, doi: 10.3389/fonc.2022.943622.
 76. Montpetit, A. J., Alhareeri, A. A., Montpetit, M., Starkweather, A. R., Elmore, L. W., Filler, K., Mohanraj, L., Burton, C. W., Menzies, V. S., Lyon, D. E., and Jackson-Cook, C. K. (2014) Telomere length: a review of methods for measurement, *Nurs. Res.*, **63**, 289-299, doi: 10.1097/NNR.0000000000000037.
 77. Lai, T.-P., Wright, W. E., and Shay, J. W. (2018) Comparison of telomere length measurement methods, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **373**, 20160451, doi: 10.1098/rstb.2016.0451.
 78. Lin, J., and Epel, E. (2022) Stress and telomere shortening: insights from cellular mechanisms, *Ageing Res. Rev.*, **73**, 101507, doi: 10.1016/j.arr.2021.101507.
 79. Tham, C. Y., Poon, L., Yan, T., Koh, J. Y. P., Ramlee, M. K., Teoh, V. S. I., Zhang, S., Cai, Y., Hong, Z., Lee, G. S., Liu, J., Song, H. W., Hwang, W. Y. K.,

- Teh, B. T., Tan, P., Xu, L., Koh, A. S., Osato, M., and Li, S. (2023) High-throughput telomere length measurement at nucleotide resolution using the PacBio high fidelity sequencing platform, *Nat. Commun.*, **14**, 281, doi: 10.1038/s41467-023-35823-7.
80. Yegorov, Y. E., Poznyak, A. V., Nikiforov, N. G., Starodubova, A. V., and Orekhov, A. N. (2021) Role of telomeres shortening in atherogenesis: an overview, *Cells*, **10**, 395, doi: 10.3390/cells10020395.
 81. Di Fagagna, D., Reaper, F., Clay-Farrace, P. M., Fiegler, L., Carr, H., Von Zglinicki, T., Saretzki, G., Carter, N. P., and Jackson, S.P. (2003) A DNA damage checkpoint response in telomere initiated senescence, *Nature*, **426**, 194-198, doi: 10.1038/nature02118.
 82. Fumagalli, M., Rossiello, F., Clerici, M., Barozzi, S., Cittaro, D., Kaplunov, J. M., Bucci, G., Dobрева, M., Matti, V., Beausejour, C. M., Herbig, U., Longhese, M. P., and d'Adda di Fagagna, F. (2012) Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation, *Nat. Cell Biol.*, **14**, 355-365, doi: 10.1038/ncb2466.
 83. Di Leonardo, A., Linke, S. P., Clarkin, K., and Wahl, G. M. (1994) DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1arrest and long-term induction of Cip1 in normal human fibroblasts, *Genes Dev.*, **8**, 2540-2551, doi: 10.1101/gad.8.21.2540.
 84. Sikora, E., Bielak-Zmijewska, A., and Mosieniak, G. (2018) What is and what is not cell senescence, *Postepy Biochem.*, **64**, 110-118, doi: 10.18388/pb.2018_120.
 85. Gems, D., and Kern, C. C. (2022) Is "cellular senescence" a misnomer? *Geroscience*, **44**, 2461-2469, doi: 10.1007/s11357-022-00652-x.
 86. Nakamura, A. J., Chiang, Y. J., Hathcock, K. S., Horikawa, I., Sedelnikova, O. A., Hodes, R. J., and Bonner, W. M. (2008) Both telomeric and non-telomeric DNA damage are determinants of mammalian cellular senescence, *Epigenet. Chromatin*, **1**, 6, doi: 10.1186/1756-8935-1-6.
 87. Gorgoulis, V., Adams, P. D., Alimonti, A., Bennett, D. C., Bischof, O., Bishop, C., Campisi, J., Collado, M., Evangelou, K., Ferbeyre, G., Gil, J., Hara, E., Krizhanovskiy, V., Jurk, D., Maier, A. B., Narita, M., Niedernhofer, L., Passos, J. F., Robbins, P. D., Schmitt, C. A., Sedivy, J., Vougas, K., von Zglinicki, T., Zhou, D., Serrano, M., and Demaria, M. (2019) Cellular senescence: defining a path forward, *Cell*, **179**, 813-827, doi: 10.1016/j.cell.2019.10.005.
 88. Yegorov, Y. E., Akimov, S. S., Hass, R., Zelenin, A. V., and Prudovsky, I. A. (1998) Endogenous beta-galactosidase activity in continuously nonproliferating cells, *Exp. Cell Res.*, **243**, 207-211, doi: 10.1006/excr.1998.4169.
 89. Passos, J. F., Nelson, G., Wang, C., Richter, T., Simillion, C., Proctor, C. J., Miwa, S., Olijslagers, S., Hallinan, J., Wipat, A., Saretzki, G., Rudolph, K. L., Kirkwood, T. B. L., and von Zglinicki, T. (2010) Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence, *Mol. Systems Biol.*, **6**, 347, doi: 10.1038/msb.2010.5.
 90. Correia-Melo, C., Marques, F. D. M., Anderson, R., Hewitt, G., Hewitt, R., Cole, J., Carroll, B. M., Miwa, S., Birch, J., Merz, A., Rushton, M. D., Charles, M., Jurk, D., Tait, S. W. G., Czapiewski, R., Greaves, L., Nelson, G., Bohlooly-Y, M., Rodriguez-Cuenca, S., Vidal-Puig, A., Mann, D., Saretzki, G., Quarato, G., Green, D. R., Adams, P. D., von Zglinicki, T., Korolchuk, V. I., and Passos, J. F. (2016) Mitochondria are required for pro-ageing features of the senescent phenotype, *EMBO J.*, **35**, 724-742, doi: 10.15252/embj.201592862.
 91. De Cecco, M., Ito, T., Petrashen, A. P., Elias, A. E., and Skvir, N. J., (2019) L1 drives IFN in senescent cells and promotes age-associated inflammation, *Nature*, **566**, 73-78, doi: 10.1038/s41586-018-0784-9.
 92. Zhao, N., Yin, G., Liu, C., Zhang, W., Shen, Y., Wang, D., Lin, Z., Yang, J., Mao, J., Guo, R., Zhang, Y., Wang, F., Liu, Z., Lu, X., and Liu, L. (2023) Critically short telomeres derepress retrotransposons to promote genome instability in embryonic stem cells, *Cell Discov.*, **9**, 45, doi: 10.1038/s41421-023-00538-y.
 93. Liu, X., Liu, Z., Wu, Z., Ren, J., Fan, Y., et al. (2023) Resurrection of endogenous retroviruses during aging reinforces senescence, *Cell*, **186**, 287-304, doi: 10.1016/j.cell.2022.12.017.
 94. Pal, S., and Tyler, J. K. (2016) Epigenetics and aging, *Sci. Adv.*, **2**, e1600584, doi: 10.1126/sciadv.1600584.
 95. Gorbunova, V., Seluanov, A., Mita, P., McKerrow, W., Fenyö, D., Boeke, J. D., Linker, S. B., Gage, F. H., Kreiling, J. A., Petrashen, A. P., Woodham, T. A., Taylor, J. R., Helfand, S. L., and Sedivy, J. M. (2021) The role of retrotransposable elements in ageing and age-associated diseases, *Nature*, **596**, 43-53, doi: 10.1038/s41586-021-03542-y.
 96. Miller, K. N., Vettorelli, S. G., Salmonowicz, H., Dasgupta, N., Liu, T., Passos, J. F., and Adams, P. D. (2021) Cytoplasmic DNA: sources, sensing, and role in aging and disease, *Cell*, **184**, 5506-5526, doi: 10.1016/j.cell.2021.09.034.
 97. Chandrasekaran, A., Idelchik, M. P. S., and Melendez, J. A. (2017) Redox control of senescence and age-related disease, *Redox Biol.*, **11**, 91-102, doi: 10.1016/j.redox.2016.11.005.
 98. Martini, H., and Passos, J. F. (2023) Cellular senescence: all roads lead to mitochondria, *FEBS J.*, **290**, 1186-1202, doi: 10.1111/febs.16361.
 99. Kirkland, J. L., and Tchkonina, T. (2017) Cellular senescence: a translational perspective, *EBioMed.*, **21**, 21-28, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.04.013.
 100. Kumari, R., and Jat, P. (2021) Mechanisms of cellular senescence: cell cycle arrest and senescence associated secretory phenotype, *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 645593, doi: 10.3389/fcell.2021.645593.
 101. Shay, J. W., Wright, W. E., and Werbin, H. (1993) Toward a molecular understanding of human breast

- cancer: a hypothesis, *Breast Cancer Res. Treat.*, **25**, 83-94, doi: 10.1007/BF00662404.
102. Nassour, J., Aguiar, L. G., Correia, A., Schmidt, T. T., Mainz, L., Przetocka, S., Haggblom, C., Tadepalle, N., Williams, A., Shokhirev, M. N., Akincilar, S. C., Tergaonkar, V., Shadel, G. S., and Karlseder, J. (2023) Telomere-to-mitochondria signalling by ZBP1 mediates replicative crisis, *Nature*, **614**, 767-773, doi: 10.1038/s41586-023-05710-8.
 103. Nassour, J., Radford, R., Correia, A., Fusté, J. M., Schoell, B., Jauch, A., Shaw, R. J., and Karlseder, J. (2019) Autophagic cell death restricts chromosomal instability during replicative crisis, *Nature*, **565**, 659-663, doi: 10.1038/s41586-019-0885-0.
 104. Maciejewski, J., and de Lange, T. (2017) Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **18**, 175-186, doi: 10.1038/nrm.2016.171.
 105. Maciejewski, J., Li, Y., Bosco, N., Campbell, P. J., and de Lange, T. (2015) Chromothripsis and kataegis induced by telomere crisis, *Cell*, **163**, 1641-1654, doi: 10.1016/j.cell.2015.11.054.
 106. Lo, A. W. I., Sabatier, L., Fouladi, B., Pottier, G., Ricoul, M., and Murnane, J. P. (2002) DNA amplification by breakage/fusion/bridge cycles initiated by spontaneous telomere loss in a human cancer cell line, *Neoplasia*, **4**, 531-538, doi: 10.1038/sj.neo.7900267.
 107. Bignell, G. R., Santarius, T., Pole, J. C. M., Butler, A. P., Perry, J., Pleasance, E., Greenman, C., Menzies, A., Taylor, S., Edkins, S., Campbell, P., Quail, M., Plumb, B., Matthews, L., McLay, K., Edwards, P. A. W., Rogers, J., Wooster, R., Futreal, P. A., and Stratton, M. R. (2007) Architectures of somatic genomic rearrangement in human cancer amplicons at sequence-level resolution, *Genome Res.*, **17**, 1296-1303, doi: 10.1101/gr.6522707.
 108. Campbell, P. J., Yachida, S., Mudie, L. J., Stephens, P. J., Pleasance, E. D., Stebbings, L. A., Morsberger, L. A., Latimer, C., McLaren, S., Lin, M.-L., McBride, D. J., Varela, I., Nik-Zainal, S. A., Leroy, C., Jia, M., Menzies, A., Butler, A. P., Teague, J. W., Griffin, C. A., Burton, J., Swerdlow, H., Quail, M. A., Stratton, M. R., Iacobuzio-Donahue, C., and Futreal, P. A. (2010) The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer, *Nature*, **467**, 1109-1113, doi: 10.1038/nature09460.
 109. Lin, T. T., Letsolo, B. T., Jones, R. E., Rowson, J., Pratt, G., Hewamana, S., Fegan, C., Pepper, C., and Baird, D. M. (2010) Telomere dysfunction and fusion during the progression of chronic lymphocytic leukemia: evidence for a telomere crisis, *Blood*, **116**, 1899-1907, doi: 10.1182/blood-2010-02-272104.
 110. Tanaka, H., Abe, S., Huda, N., Tu, L., Beam, M. J., Grimes, B., and Gilley, D. (2012) Telomere fusions in early human breast carcinoma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 14098-14103, doi: 10.1073/pnas.1120062109.
 111. Davoli, T., and de Lange, T. (2012) Telomere-driven tetraploidization occurs in human cells undergoing crisis and promotes transformation of mouse cells, *Cancer Cell*, **21**, 765-776, doi: 10.1016/j.ccr.2012.03.044.
 112. Li, Y., Schwab, C., Ryan, S., Papaemmanuil, E., Robinson, H. M., Jacobs, P., Moorman, A. V., Dyer, S., Borrow, J., Griffiths, M., Heerema, N. A., Carroll, A. J., Talley, P., Bown, N., Telford, N., Ross, F. M., Gaunt, L., McNally, R. J. Q., Young, B. D., Sinclair, P., Rand, V., Teixeira, M. R., Joseph, O., Robinson, B., Maddison, M., Dastugue, N., Vandenberghe, P., Stephens, P. J., Cheng, J., Loo, P. V., Stratton, M. R., Campbell, P. J., and Harrison, C. J. (2014) Constitutional and somatic rearrangement of chromosome 21 in acute lymphoblastic leukaemia, *Nature*, **508**, 102, doi: 10.1038/nature13115.
 113. Waddell, N., Pajic, M., Patch, A. M., Chang, D. K., Kassahn, K. S., Bailey, P., Johns, A. L., Miller, D., Nones, K., Quek, K., Quinn, M. C. J., Robertson, A. J., Fadlullah, M. Z. H., Bruxner, T. J. C., Christ, A. N., Harliwong, I., Idrisoglu, S., Manning, S., Nourse, C., et al. (2015) Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer, *Nature*, **518**, 495-501, doi: 10.1038/nature14169.
 114. De Lange, T., Shiue, L., Myers, R. M., Cox, D. R., Naylor, S. L., Killery, A. M., and Varmus, H. E. (1990) Structure and variability of human chromosome ends, *Mol. Cell. Biol.*, **10**, 518-527, doi: 10.1128/mcb.10.2.518-527.1990.
 115. Morales, C. P., Holt, S. E., Ouellette, M., Kaur, K. J., Yan, Y., Wilson, K. S., White, M. A., Wright, W. E., and Shay, J. W. (1999) Absence of cancer-associated changes in human fibroblasts immortalized with telomerase, *Nat. Genet.*, **21**, 115-118, doi: 10.1038/5063.
 116. Yegorov, Y. E., Moldaver, M. V., Vishnyakova, K. S., Terekhov, S. M., Dashinimaev, E. B., Cheglakov, I. B., Toropygin, I. Y., Yarygin, K. N., Chumakov, P. M., Korochkin, L. I., Antonova, G. A., Rybalkina, E. I., Saburina, I. N., Burnaevskii, N. S., and Zelenin, A. V. (2007) Enhanced control of proliferation in telomerized cells, *Russ. J. Dev. Biol.*, **38**, 76-89.
 117. Harley, C. B. (2002) Telomerase is not an oncogene, *Oncogene*, **21**, 494-502, doi: 10.1038/sj.onc.1205076.
 118. Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, **144**, 646-674, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
 119. Akincilar, S. C., Unal, B., and Tergaonkar, V. (2016) Reactivation of telomerase in cancer, *Cell. Mol. Life Sci.*, **73**, 1659-1670, doi: 10.1007/s00018-016-2146-9.
 120. Weinhold, N., Jacobsen, A., Schultz, N., Sander, C., and Lee, W. (2014) Genome-wide analysis of noncoding regulatory mutations in cancer, *Nat. Genet.*, **46**, 1160-1165, doi: 10.1038/ng.3101.

121. Killela, P. J., Reitman, Z. J., Jiao, Y., Bettegowda, C., Agrawal, N., Diaz Jr, L. A., Friedman, A. H., Friedman, H., Gallia, G. L., Giovanella, B. C., Grollman, A. P., He, T.-C., He, Y., Hruban, R. H., Jallo, G. I., Mandahl, N., Meeker, A. K., Mertens, F., Netto, G. J., et al. (2013) TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **110**, 6021-6026, doi: 10.1073/pnas.1303607110.
122. Nault, J. C., Mallet, M., Pilati, C., Calderaro, J., Bioulac-Sage, P., Laurent, C., Laurent, A., Cherqui, D., Balabaud, C., and Zucman-Rossi, J. (2013) High frequency of telomerase reverse-transcriptase promoter somatic mutations in hepatocellular carcinoma and preneoplastic lesions, *Nat. Commun.*, **4**, 2218, doi: 10.1038/ncomms3218.
123. Shain, A. H., Yeh, I., Kovalyshyn, I., Sriharan, A., Talevich, E., Gagnon, A., Dummer, R., North, J., Pincus, L., Ruben, B., Rickaby, W., D'Arrigo, C., Robson, A., and Bastian, B. C. (2015) The genetic evolution of melanoma from precursor lesions, *N. Engl. J. Med.*, **373**, 1926-1936, doi: 10.1056/NEJMoa1502583.
124. Kawai-Kitahata, F., Asahina, Y., Tanaka, S., Kakinuma, S., Murakawa, M., Nitta, S., Watanabe, T., Otani, S., Taniguchi, M., Goto, F., Nagata, H., Kaneko, S., Tasaka-Fujita, M., Nishimura-Sakurai, Y., Azuma, S., Itsui, Y., Nakagawa, M., Tanabe, M., Takano, S., Fukasawa, M., Sakamoto, M., Maekawa, S., Enomoto, N., and Watanabe, M. (2016) Comprehensive analyses of mutations and hepatitis B virus integration in hepatocellular carcinoma with clinicopathological features, *J. Gastroenterol.*, **51**, 473-486, doi: 10.1007/s00535-015-1126-4.
125. Valentijn, L. J., Koster, J., Zwijnenburg, D. A., Hasselt, N. E., van Sluis, P., Volckmann, R., van Noesel, M. M., George, R. E., Tytgat, G. A. M., Molenaar, J. J., and Versteeg, R. (2015) TERT rearrangements are frequent in neuroblastoma and identify aggressive tumors, *Nat. Genet.*, **47**, 1411-1414, doi: 10.1038/ng.3438.
126. Peifer, M., Hertwig, F., Roels, F., Dreidax, D., Gartlgruber, M., Menon, R., Krämer, A., Roncaioli, J.L., Sand, F., Heuckmann, J. M., Ikram, F., Schmidt, R., Ackermann, S., Engesser, A., Kahlert, Y., Vogel, W., Altmüller, J., Nürnberg, P., Thierry-Mieg, J., et al. (2015) Telomerase activation by genomic rearrangements in high-risk neuroblastoma, *Nature*, **526**, 700-704, doi: 10.1038/nature14980.
127. Barthel, F. P., Wei, W., Tang, M., Martinez-Ledesma E., Hu, X., Amin, S. B., Akdemir, K. C., Seth, S., Song, X., Wang, Q., Lichtenberg, T., Hu, J., Zhang, J., Zheng, S., and Verhaak, R. G. W. (2017) Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types, *Nat. Genet.*, **49**, 349-357, doi: 10.1038/ng.3781.
128. Koh, C. M., Khattar, E., Leow, S. C., Liu, C. Y., Muller, J., Ang, W. X., Li, Y., Franzoso, G., Li, S., Guccione, E., and Tergaonkar, V. (2015) Telomerase regulates MYC-driven oncogenesis independent of its reverse transcriptase activity, *J. Clin. Invest.*, **125**, 2109-2122, doi: 10.1172/JCI79134.
129. Low, K. C., and Tergaonkar, V. (2013) Telomerase: central regulator of all of the hallmarks of cancer, *Trends Biochem. Sci.*, **38**, 426-434, doi: 10.1016/j.tibs.2013.07.001.
130. Hiyama, E., Hiyama, K., Yokoyama, T., Matsuura, Y., Piatyszek, M. A., and Shay, J. W. (1995) Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes, *Nat. Med.*, **1**, 249-255, doi: 10.1038/nm0395-249.
131. Hiyama, E., Kodama, T., Shinbara, K., Iwao, T., Itoh, M., Hiyama, K., Shay, J. W., Matsuura, Y., and Yokoyama, T. (1997) Telomerase activity is detected in pancreatic cancer but not in benign tumors, *Cancer Res.*, **57**, 326-331.
132. Naito, Y., Takagi, T., Handa, O., Ishikawa, T., Matsumoto, N., Yoshida, N., Kato, H., Ando, T., Takemura, T., Itani, K., Hisatomi, H., Tsuchihashi, Y., and Yoshikawa, T. (2001) Telomerase activity and expression of telomerase RNA component and catalytic subunits in precancerous and cancerous colorectal lesions, *Tumor Biol.*, **22**, 374-382, doi: 10.1159/000050640.
133. Ouellette, M. M., Liao, M., Herbert, B.-S., Johnson, M., Holt, S. E., Liss, H. S., Shay, J. W., and Wright, W. E. (2000) Subsenescent telomere lengths in fibroblasts immortalized by limiting amounts of telomerase, *J. Biol. Chem.*, **275**, 10072-10076, doi: 10.1074/jbc.275.14.10072.
134. Marinaccio, J., Micheli, E., Udrouiu, I., Di Nottia, M., Carrozzo, R., Baranzini, N., Grimaldi, A., Leone, S., Moreno, S., Muzzi, M., and Sgura, A. (2023) TERT extra-telomeric roles: antioxidant activity and mitochondrial protection, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 4450, doi: 10.3390/ijms24054450.
135. Martens, A., Schmid, B., Akintola, O., and Saretzki, G. (2020) Telomerase does not improve DNA repair in mitochondria upon stress but increases MnSOD protein under serum-free conditions, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 27, doi: 10.3390/ijms21010027.
136. De Jesus, B. B., Vera, E., Schneeberger, K., Tejera, A. M., Ayuso, E., Bosch, F., and Blasco, M. A. (2012) Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer, *EMBO Mol. Med.*, **4**, 691-704, doi: 10.1002/emmm.201200245.
137. De Jesus, B. B., Schneeberger, K., Vera, E., Tejera, A., Harley, C. B., and Blasco, M. A. (2011) The telomerase activator TA-65 elongates short telomeres and increases health span of adult/old mice without increasing cancer incidence, *Aging Cell*, **10**, 604-621, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00700.x.

138. Fernandez, M. L., Thomas, M. S., Lemos, B. S., DiMarco, D. M., Missimer, A., Melough, M., Chun, O. K., Murillo, A. G., Alyousef, H. M., and Medina-Vera, I. (2018) TA-65, a telomerase activator improves cardiovascular markers in patients with metabolic syndrome, *Curr. Pharm. Des.*, **24**, 1905-1911, doi: 10.2174/1381612824666180316114832.
139. Bawamia, B., Spray, L., Wangsaputra, V. K., Bennaceur, K., Vahabi, S., Stellos, K., Kharatikoo-paei, E., Ogundimu, E., Gale, C. P., Keavney, B., Maier, R., Hancock, H., Richardson, G., Austin, D., and Spyridopoulos, I. (2023) Activation of telomerase by TA-65 enhances immunity and reduces inflammation post myocardial infarction, *Geroscience*, doi: 10.1007/s11357-023-00794-6.
140. Yegorov, Y. E., Poznyak, A. V., Bezsonov, E. E., Zhuravlev, A. D., Nikiforov, N. G., Vishnyakova, K. S., and Orekhov, A. N. (2022) Somatic mutations of hematopoietic cells are an additional mechanism of body aging, conducive to comorbidity and increasing chronification of inflammation, *Biomedicines*, **10**, 782, doi: 10.3390/biomedicines10040782.
141. Yegorov, Y. E. (2022) Telomerase: role in health and aging, *Biomedicines*, **10**, 2957, doi: 10.3390/biomedicines10112957.
142. Gutkin, A., Uziel, O., Beery, E., Nordenberg, J., Pinchasi, M., Goldvaser, H., Henick, S., Goldberg, M., and Lahav, M. (2016) Tumor cells derived exosomes contain hTERT mRNA and transform nonmalignant fibroblasts into telomerase positive cells, *Oncotarget*, **7**, 59173-59188, doi: 10.18632/oncotarget.10384.
143. Likonen, D., Pinchasi, M., Beery, E., Sarsor, Z., Signorini, L. F., Gervits, A., Sharan, R., Lahav, M., Raanani, P., and Uziel, O. (2022) Exosomal telomerase transcripts reprogram the microRNA transcriptome profile of fibroblasts and partially contribute to CAF formation, *Sci. Rep.*, **12**, 16415, doi: 10.1038/s41598-022-20186-8.
144. Lanna, A., Vaz, B., D'Ambra, C., Valvo, S., Vuotto, C., Chiurchiù, V., Devine, O., Sanchez, M., Borsellino, G., Akbar, A. N., De Bardi, M., Gilroy, D. W., Dustin, M. L., Blumer, B., and Karin, M. (2022) An intercellular transfer of telomeres rescues T cells from senescence and promotes long-term immunological memory, *Nat. Cell Biol.*, **24**, 1461-1474, doi: 10.1038/s41556-022-00991-z.
145. Wang, S., Madu, C. O., and Lu, Y. (2019) Telomere and its role in diseases, *Oncomedicine*, **4**, 1-9, doi: 10.7150/oncm.28210.

OLOVNIKOV, TELOMERES AND TELOMERASE. IS IT POSSIBLE TO PROLONG A HEALTHY LIFE?

Review

Y. E. Yegorov

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,
119991 Moscow, Russia; e-mail: yegorov58@gmail.com*

The science of telomeres and telomerase has made tremendous progress in recent decades. In this review, we consider it first in a historical context (the Carrel-Hayflick-Olovnikov-Blackburn chain of discoveries) and then review current knowledge of telomere structure and dynamics in norm and pathology. Central to the review are the consequences of telomere shortening, including telomere position effects, DNA damage signaling, and increased genetic instability. Cell senescence and the role of telomere length in its development are discussed separately. Therapeutic aspects and risks of telomerase and other telomere lengthening methods are also discussed.

Keywords: telomeres, telomerase, aging, carcinogenesis, Olovnikov, telomere crisis, cell senescence, inflammatory aging, genetic instability

НЕСТАБИЛЬНАЯ ДНК НЕЙРОНОВ: СЧЕТЧИК ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И ДРАЙВЕР ЭВОЛЮЦИИ

Обзор

© 2023 В.Е. Дьяконова

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,
119334 Москва, Россия; электронная почта: dyakonova.varvara@gmail.com

Поступила в редакцию 17.07.2023

После доработки 17.09.2023

Принята к публикации 20.09.2023

Произошедшее в последнее десятилетие осознание постмитотической нестабильности ДНК нейронов как платы за электрическую активность и высокую пластичность их эпигенома меняет теоретический ландшафт не только нейронауки, но и шире – биологии. Действительно, как предполагал А.М. Оловников, именно ДНК нейронов может быть «инициальным субстратом старения», сейчас накоплено уже много данных, существенно повысивших вероятность этой гипотезы. Обзор посвящен их анализу. Как нейрональная ДНК накапливает повреждения, в каких областях генома, какие факторы способствуют их накоплению и насколько они могут быть связаны со старением и продолжительностью жизни? Кроме того, нестабильность ДНК нейронов, очевидно, сопровождалась поиском в эволюции Metazoa разных способов снижения биологической платы за работу мозга, став своеобразным драйвером этой эволюции. Такие явления, как сон, увеличение числа нейронов в эволюции позвоночных, взрослый нейрогенез, распределенная активность нейронов, соматическая полиплоидия, редактирование РНК у головоногих моллюсков, приобретают новый смысл при рассмотрении их в свете решения компромисса «пластичность–нестабильность нейрональной ДНК». Тема имеет очевидное значение не только для фундаментальной нейронауки, но и для трансляционной медицины.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нервная система, ДНК нейрона, постмитотический мутагенез, репарация ДНК, продолжительность жизни, эпигенетика, эволюция нервной системы.

DOI: 10.31857/S0320972523110052, **EDN:** MLCJEG

ВВЕДЕНИЕ

«Совокупность разных фактов свидетельствует о том, что именно головной мозг есть инициальный субстрат старения, а в клетках мозга этим субстратом является его ДНК».

А.М. Оловников (2003 г.)

Алексей Матвеевич Оловников широко известен выдающимися теоретическими достижениями в области механизмов регуляции продолжительности жизни и биологической хронометрии. Он предсказал существование теломер в делящихся клетках, ведущих отсчет клеточных делений, еще до их обнаружения в

эксперименте [1, 2]. Создав теломерную гипотезу старения клетки, А.М. Оловников продолжал интересоваться проблемой биологического времени вплоть до последних лет [3]. В 2003 г. вышла его большая теоретическая работа, посвященная редусомной гипотезе старения [4]. В ней он высказал следующее предположение: «Совокупность разных фактов свидетельствует о том, что именно головной мозг есть инициальный субстрат старения, а в клетках мозга этим субстратом является его ДНК». В 2003 г. экспериментальные данные были еще немногочисленны и разрозненны, однако в последние годы это предположение находит явное подтверждение в работах молекулярных нейробиологов.

Принятые сокращения: индели – вставки (небольшие инсерции или делеции); NMDA – N-methyl-D-aspartate; Rap1 – инициатор процессов репарации двухцепочечных разрывов ДНК; РТА – первичная амплификация, направленная на шаблон; SNV – мутации с заменой одного нуклеотида; Торо IIβ – топоизомераза II.

Цель статьи – анализ литературных данных преимущественно последних десяти лет, проливающих свет на то, как нейрональная ДНК накапливает повреждения, насколько они могут быть связаны со старением и продолжительностью жизни. Будет рассмотрено, какие факторы способствуют увеличению постмитотических повреждений ДНК нейронов и в каких именно областях генома. Эти новые данные о высокой нестабильности нейрональной ДНК меняют наши представления о многих процессах в нервной системе и ее эволюции.

ЕСЛИ НЕ НЕДОРЕПЛИКАЦИЯ, ТО ЧТО?

Одной из проблем «нейронального счетчика» биологического времени в нейронах является их дифференцированность, не предполагающая митозов во взрослой жизни [4, 5]. Следовательно, предложенный ранее А.М. Оловниковым способ «отсчета времени» для делящихся клеток путем укорочения специфической ДНК из-за недорепликации ее концевых участков во время митоза [4] не может использоваться в постмитотическом нейроне. А.М. Оловников был уверен, что «ради работы предполагаемых хрономер (в нейронах. – Прим. автора) природа должна была изобрести способ, который мог бы работать даже в отсутствие репликации» [4]. В последней публикации 2022 г. он предложил идею эпигенетического маркирования специализированной темпоральной ДНК [3]. Однако ранее он считал, что этот способ может быть основан на образовании разрывов ДНК (например, при интенсивной транскрипции) и неполной репарации, особенно концевых отделов гипотетической хрономерной ДНК [4]. Лишь через десять лет после выхода этой публикации появились первые экспериментальные данные, свидетельствующие об образовании одно- и двухцепочечных разрывов ДНК с последующей репарацией в нейронах даже при обычной физиологической активности.

НОРМАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИВОДИТ К ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК НЕЙРОНОВ

2013 год еще не оценен нейробиологическим сообществом как год крупнейшего и, возможно, одного из самых неожиданных открытий в нейробиологии, последствия которого в полной мере будут осознаны позже. Группа исследователей, занимавшихся болезнью Альцгеймера на модельной линии мышей, не-

ожиданно обнаружила высокую частоту двухцепочечных разрывов ДНК в разных отделах мозга не только у опытной, но и у контрольной «здоровой» группы животных после двух часов обычной активности в открытом поле [6]. Через 24 часа у контрольных мышей большинство разрывов было репарировано, у животных с болезнью Альцгеймера и число нейронов с фрагментацией ДНК, и степень фрагментации ДНК (оцениваемой по длине «флуоресцентного» хвоста, высвобождаемого в электромагнитном поле ядрами нейронов с поврежденной ДНК) сохранялись достоверно более высокими. Удаление надпочечников и введение пеллеты, поддерживающей уровень кортикостероидов на постоянном физиологическом уровне, не привело к уменьшению двухцепочечных разрывов ДНК. Следовательно, стресс не объясняет их появление после активности животного в открытом поле. При этом не только активное поведение, но и сенсорная стимуляция у здоровых животных приводит к фрагментации ДНК в областях мозга, связанных с сенсорным потоком. Так, латеральная оптическая стимуляция повышала число нейронов с двухцепочечными разрывами в визуальной коре с соответствующей стороны [6]. Наконец, оптогенетическая стимуляция стриатума увеличивала число нейронов с меткой двухцепочечных разрывов [6].

Уже через два года методом полногеномного секвенирования ДНК нового поколения было показано, что сама электрическая активность нейронов, их возбуждение, может быть причиной образования двухцепочечных разрывов [7]. Причем именно повреждение ДНК является связующим звеном между электрической активностью и транскрипцией нейрональных генов раннего ответа (EIG), таких как *Fos*, *Npas4*, *Egr1*. (Примечательно, что ранее экспрессию этих генов использовали как маркер активных нейронов.) Образование двухцепочечных разрывов в промоторных областях генов раннего ответа оказалось достаточным для активации их экспрессии. Предполагается, что ферментом, связывающим электрическую активность и образование двухцепочечных разрывов, может быть топоизомераза II (Торо II β). Именно она катализирует временный разрыв и воссоединение двух цепей ДНК, репарация приводит к деметилированию ДНК промоторных областей и транскрипции генов раннего ответа. Нокаут гена, кодирующего Торо II β , снимает вызванное электрической активностью образование двухцепочечных разрывов и транскрипцию генов раннего ответа [7]. В 2022 г. появилась работа, проливающая свет на механизмы влияния возбуждения на

состояние Торо IIβ [8]. Показано, что приток кальция в ответ на активацию возбуждающих глутаматных рецепторов NMDA-типа (ионотропные рецепторы, связывающие N-метил-D-аспаратат) активирует фосфатазу кальцинейрин. Кальцийнейрин дефосфорилирует Торо IIβ по остаткам S1509 и S1511, что стимулирует активность последней по расщеплению ДНК и ведет к образованию двухцепочечных разрывов. При этом взаимодействие кальцинейрина с Торо IIβ при электрической активности нейрона преимущественно локализуется на ядерной периферии в нейронах, там же происходят и разрывы ДНК [8]. Таким образом, в работе сделан еще один важный для концепции А.М. Оловникова вывод от том, что разрывы ДНК и их последствия должны накапливаться в локализованных участках генома. Помимо кальциевого пути образования двухцепочечных разрывов, не следует забывать и про менее специфичное влияние интенсивного метаболизма в нейронах, ведущего к образованию свободных радикалов и активных форм кислорода, которые также остаются признанными факторами нестабильности для нейрональной ДНК [9].

Поиск горячих точек повреждения нейронального генома был осуществлен и в отношении одноцепочечных разрывов ДНК [10, 11]. Оказалось, что постмитотические нейроны человека, выращенные в культуре из плюрипотентных клеток, накапливают неожиданно высокие уровни одноцепочечных разрывов, причем в определенных участках генома. Полногеномное картирование свидетельствует о том, что эти разрывы расположены в энхансерах на динуклеотидах CpG (дезоксцитидин и дезоксигуанозин, соединенные фосфодиэстеразной связью) или рядом с ними и участках деметилирования ДНК [10]. Похожие выводы сделаны и в работе 2021 г. [12], в которой показано, что репарация ДНК (следовательно, и исходные повреждения) часто происходит в четко определенных горячих точках, которые соседствуют с важными генами. Эти горячие точки обогащены изоформами гистонов γH2AX и РНК-связывающими белками и связаны с эволюционно консервативными регуляторными элементами генома человека. Все это были ошеломляющие результаты, которые требовали осмысления.

РАЗРЫВЫ ДНК – МЕХАНИЗМ НЕЙРОНАЛЬНОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ ИЛИ ПЛАТА ЗА НЕЕ?

2013 год знаменателен для развития обсуждаемой области исследований еще одной,

опубликованной на русском языке, теоретической работой Алексея Крушинского [13] (позже переработанная версия вышла в журнале открытого доступа [14]). В ней на основании информационно-энтропийных представлений Леона Бриллюэна была высказана гипотеза, что за получение новой информации мозг платит не только энергией, но и утратой исходной информации. Сейчас представляется, что эта гипотеза удивительно красиво описывает события, с которыми столкнулись молекулярные нейробиологи при изучении нейрональной ДНК, «инициального субстрата» ума и старения.

В статье Madabhushi et al. [7], впервые связавшей нейрональную активность и транскрипцию ранних нейрональных генов с образованием двухцепочечных разрывов, был сделан эпатажный вывод о том, что нарушение целостности генома мозга – нормальное физиологическое явление, которое к тому же имеет решающее значение для пластических изменений в синапсах, обучения и памяти, поскольку в этих процессах необходимо участие генов раннего ответа. «Не порвешь ДНК – не запомнишь» – эта интерпретация была подхвачена рядом исследователей, которые экспериментально подтверждали необходимость «временной порчи ДНК» для реализации разных видов памяти и обучения [15] либо придерживались этого взгляда в обзорных работах [16]. Некоторые экспериментаторы отнеслись более настороженно к новой парадигме памяти на уровне ДНК: «порвал, репарировал, запомнил» [17–19]. Ведь репарация – процесс не 100%-ной эффективности, и если разрывы ДНК столь часто происходят, значит неизбежно будут накапливаться повреждения генома мозга и в виде недорепарации, и в виде ошибок – мутаций. Накапливаются ли они?

МНОГО ЛИ В ГЕНОМАХ ОТДЕЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ МУТАЦИЙ И КАК ОНИ РАСПРЕДЕЛЕННЫ?

Секвенирование геномов отдельных нейронов мышей [20] выявило необычно высокую частоту постмитотических мутаций в эволюционно консервативных частях их генома, в экзонах и промоторах генов с самыми высокими уровнями экспрессии. То есть мутации накапливаются тоже в горячих точках и примерно тех же, по которым происходят разрывы. Наиболее частым типом мутации была замена одного нуклеотида (SNV) [20], что может быть следствием ошибки работы ДНК-

Повреждения ДНК в нейронах при физиологической активности или физиологических воздействиях

Вид повреждений ДНК нейрона	Объект	Воздействие	Год	Источник
Двухцепочечные разрывы	мышь, дикий тип	исследовательское поведение в открытом поле	2013	[6]
Двухцепочечные разрывы	мышь, hAPP (модель болезни Альцгеймера)	исследовательское поведение в открытом поле	2013	[6]
Двухцепочечные разрывы	мышь, дикий тип	зрительная стимуляция	2013	[6]
Двухцепочечные разрывы	мышь, Adora2a-Cre	оптическая стимуляция стриатума	2013	[6]
Двухцепочечные разрывы	первичные культуры нейронов мыши	амилоид-β-олигомеры (N-methyl-D-aspartate (NMDA)-зависимый эффект)	2013	[6]
Двухцепочечные разрывы	первичные культуры нейронов мыши	хлорид калия (KCl) или NMDA или биккуллин (повышение возбуждения нейронов)	2015, 2023	[7, 19]
Двухцепочечные разрывы	мышь, срезы гиппокампа	агонист глутаматных рецепторов NMDA	2015, 2022	[7, 8]
Двухцепочечные разрывы	мышь, гиппокамп	реконсолидация памяти	2020	[15]
Двухцепочечные разрывы	рыба <i>Danio rerio</i>	обычная дневная активность	2018	[32, 33]
Двухцепочечные разрывы	<i>Drosophila</i> , личинки и взрослые особи	без воздействия	2020	[75]
Одноцепочечные разрывы	нейроны человека, полученные из плюрипотентных клеток	без воздействия	2021	[10–12]
Мутации (однонуклеотидные замены, индели)	мышь, клонированные нейроны	без воздействия	2016	[20]
Мутации (однонуклеотидные замены, индели)	нейроны человека	без воздействия	2012, 2018, 2022	[21, 23, 24]

полимераз, участвующих в репарации. К сходному выводу пришли и при анализе мутаций в нейронах человека [21, 22, 23]. В работе Luquette et al. [23] использован улучшенный метод амплификации primary template-directed amplification (PTA), позволяющий снизить количество артефактов при обнаружении соматических мутаций при секвенировании ДНК. Были проанализированы данные полногеномного секвенирования пятидесяти двух PTA-амплифицированных одиночных нейронов с использованием SCAN2, нового генотипирования, разработанного авторами для идентификации SNV, а также небольших инсерций и

делеций (indels, инделей). Результаты подтвердили увеличение соматических мутаций в одиночных нейронах человека с возрастом и то, что накапливаются они в функциональных областях генома, таких как энхансеры и промоторы. Кроме того, была пересмотрена предполагаемая скорость этого накопления до 16 SNV в год (ранее ее оценивали несколько выше – до 23 SNV в год [24]). Минимальную скорость накопления инделей оценили как 3 в год на нейрон. Авторы предполагают, что обнаруженные мутации в регуляторных областях генома оказывают значительное влияние на его целостность в нейронах человека [23]. Насколько это

накопление значимо для функционирования мозга и организма в целом? В настоящее время активно исследуется возможная связь между количеством мутаций в геноме нейронов и нейродегенеративными заболеваниями, и данные свидетельствуют о наличии положительной корреляции [18, 22, 24–26].

В таблице собраны основные данные о повреждении ДНК нейронов при нормальной физиологической активности или физиологических воздействиях на организм.

НЕЙРОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СНИЖАЕТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ

Весомым аргументом в пользу того, что за работу нейрона организм расплачивается чем-то действительно значимым, стали данные, полученные в 2019 г. [27], свидетельствующие о прямом влиянии уровня возбуждения нейронов на продолжительность жизни. Начиналась работа с поиска генов, активных во фронтальной коре человека, состояние которых может быть связано с его здоровым долголетием. Был проведен дифференциальный анализ их экспрессии у когнитивно-здоровых людей в двух группах: умерших в возрасте 70–80 и 85–100 лет. Ранее та же группа исследователей обнаружила увеличение экспрессии белка гена *REST* у долгожителей [28]. В работе Zullo et al. [27] выявлена обратная корреляция между уровнем матричной РНК этого белка и мРНК целого ряда генов, связанных с нейрональным возбуждением. Уровень экспрессии этих генов, в промоторных областях которых обнаружен сайт связывания белка-репрессора *REST*, был, соответственно, достоверно ниже у долгожителей [27]. Следующая часть работы проведена на мышах для проверки связи гена *REST* с электрической активностью нейронов. Нейроны мышей с выключенным геном *REST* накапливали больше 2-фтор-2-дезоксид-Д-глюкозы (аналог глюкозы, захват которой усиливается при возбуждении), сами животные чаще проявляли эпилептиформную активность. Полученные результаты намекали на возможную связь между возбуждением и продолжительностью жизни у млекопитающих. Доказали эту связь, используя далекий от млекопитающих модельный объект – нематоду *Caenorhabditis elegans*. У этих животных есть ортолог гена *REST* млекопитающих – *spr-4*, про который ранее было известно, что его продукт защищает клетки от повреждающих воздействий активных форм

кислорода и некоторых других неблагоприятных воздействий. Был использован обширный арсенал средств от фармакологических влияний, меняющих уровень возбуждения в ту или иную сторону, до получения животных с выключенным или, наоборот, гиперактивированным геном *spr-4* (с помощью системы CRISPR-Cas9), а также с активированными или выключенными группами нейронов возбуждающего или тормозного влияния. Результаты однозначно указывали на то, что продолжительность жизни увеличивается при подавлении возбуждения и снижается – при его повышении. Почему? Может показаться удивительным, но авторы этого открытия, опубликованного в журнале «*Nature*», не обсуждают связь возбуждения с нарушением целостности генома и образованием двухцепочечных разрывов! В статье нет ссылок ни на первую работу 2013 г. [6], ни на работу 2015 г. [7], в которой нейрональное возбуждение и двухцепочечные разрывы ДНК вынесены даже в название.

При попытке глубже рассмотреть механизмы влияния нейронального возбуждения на продолжительность жизни представляются возможными несколько вариантов. Первый предполагает прямое влияние накопленных повреждений ДНК. Так, известно, что недорепарация двухцепочечных разрывов может запустить апоптоз нейрона (см., например, обзор Boutros et al. [16]). Возможен и прямой вред накопленных мутаций, снижающих общую жизнестойкость организма [18, 26]. Действительно, была обнаружена обратная корреляция между соматической мутационной нагрузкой и продолжительностью жизни у *Drosophila melanogaster* [29] и у млекопитающих, правда, у последних не в нейронах (которые не оценивали), а в эпителии кишечника [30]. Более того, сам эффект мутации на приспособленность может быть выше, чем предполагалось раньше, поскольку даже синонимичные мутации, считавшиеся ранее в основном нейтральными, оказались «сильно ненейтральными», поскольку меняли уровень экспрессии генов и оказывали влияние на организм [31].

Второй вариант, предполагающий существование нейрональной хроносомы [4], объяснял бы влияние нейронального возбуждения на скорость укорочения ДНК в ней. Критическое укорочение приводит к завершению жизни нейрона, а также, по гипотезе Оловникова [4], и к возможному гормональному влиянию на организм в целом.

Заметив, что митоз в делящихся клетках, а возбуждение – в нейронах являются основными факторами мутагенеза, в 2020 г.

Dyakonova [5] предположила существование косвенного нейронного счетчика мутаций. Поскольку теломеры в делящихся клетках, отсчитывая деления, косвенно определяют и количество накопленных мутаций, то возможно в нейронах существует подобный счетчик возбуждения, который оценивает длительность его истории и определяет продолжительность жизни нейрона. Таким счетчиком мог бы быть ген, экспрессия которого градуально и невосстановимо снижается при возбуждении нейрона, а продукт которого является репрессором апоптоза.

Результаты работы израильской группы Zada et al. [32, 33] свидетельствуют о том, что сами ферменты репарации ДНК могут активировать такие функциональные процессы на организменном уровне, как сон. Так, оказалось, что полимераза *Parg1* – инициатор процессов репарации двухцепочечных разрывов ДНК, накопившихся после дневной активности, вызывает сон и у мальков рыб, и у взрослых мышей. Активность *Parg1* повышается при депривации ото сна, а ингибирование активности *Parg1* снижает ночную динамику движения хромосом и репарацию поврежденных ДНК, накопленных во время дня. Эти данные позволяют предположить, что счетчик потенциально накопленных мутаций может включать и сигналы активности систем репарации.

Конечно, в целом механизмы влияния нейронального возбуждения на продолжительность жизни еще предстоит выяснить, однако участие разрывов нейрональной ДНК в этих механизмах представляется весьма вероятным. Интересно, что А.М. Оловников ссылался в своей статье 2003 г. [4] на более старую работу, показавшую, что облучение мозга, ведущее к фрагментации ДНК нейронов, сокращает жизнь личинок дрозофил [34]. К сожалению, в те годы еще не было известно, что нейрональное возбуждение сходным образом влияет и на стабильность ДНК, и на продолжительность жизни. Однако его тезис, что именно «головной мозг есть инициальный субстрат старения, а в клетках мозга этим субстратом является его ДНК», замечательно подтвердился.

Понимание того, что ДНК в дифференцированных нейронах чрезвычайно нестабильна, может существенно изменить многие представления о работе мозга и его эволюции. В следующих разделах будут приведены примеры того, как можно по-новому интерпретировать и некоторые давно известные факты, и недавние открытия, если рассмотреть их с этой точки зрения.

ПЛАТА ЗА УМ: ПЕРЕХОД НА МОЛЕКУЛЯРНЫЙ УРОВЕНЬ ИЗУЧЕНИЯ

Тот факт, что когнитивная активность не только дает колоссальные преимущества, но, по-видимому, имеет и определенную биологическую плату, известен давно. Эта тема обсуждалась применительно к людям; можно вспомнить знаменитый труд полуторавековой давности Чезаре Ломброзо «Гениальность и помешательство» [35], а также более современные исследования (например, Gale et al. [36] и Smith et al. [37]). Сформировалась отдельная область психологии, названная когнитивной эпидемиологией, изучающая взаимосвязь IQ с разными физиологическими, генетическими и социальными факторами у людей [38]. В целом, выявлена положительная корреляция IQ со здоровьем и продолжительностью жизни [38]. Автор объясняет ее прежде всего тем, что больной организм просто не способен обеспечить высокие когнитивные показатели. Очевидно, что и социальные факторы, такие как доступ к более качественным продуктам питания, условиям проживания и медицине, играют не последнюю роль в обеспечении этой положительной связи. С точки зрения предрасположенности к психическим болезням, благополучно выглядит средний и высокий IQ, тогда как низкий и очень высокий демонстрируют более высокую предрасположенность к биполярным расстройствам [36]. В последние годы эта область существенно обогатилась работами генетиков [39, 40]. Показано, что гены, характеризующие людей с выраженными творческими способностями, одновременно являются факторами риска разнообразных патологий [39]. Позже похожая корреляция с предрасположенностью к нейропатологии найдена и для генов, связанных со способностью получать высшее образование у человека [40].

О некоторых негативных последствиях когнитивной активности можно прочитать и в ряде исследований на млекопитающих [13, 14, 41–45]. В начале этого века были получены первые экспериментальные результаты, свидетельствующие о высокой биологической цене обучения и отбора на когнитивные навыки у беспозвоночных, мух [46–50]. У «умных» дрозофил была снижена стрессоустойчивость, плодовитость и продолжительность жизни. Похожую корреляцию между способностью к обучению и неустойчивостью к стрессу нашли у двух разных популяций улиток больших прудовиков [51, 52]. Однако методологические

ограничения и отсутствие понимания, где, на каком уровне искать механизмы связанности этих функций, приостановили развитие интересного и важного направления исследований. Отчасти этому способствовало и простое, ложно успокаивающее объяснение: мозг потребляет много энергии при когнитивной активности, значит другие органы или функциональные системы могут пострадать от ее недостатка [49, 50]. Теперь ситуация изменилась. Последние методы секвенирования генома нейронов, транскриптомного и эпигенетического анализа уже позволяют изучать молекулярную основу «платы за ум».

В предыдущих разделах обсуждалось влияние нейронального возбуждения на образование разрывов ДНК, но, помимо этого, существует еще и эпигенетический субстрат когнитивных функций, который также может повышать предрасположенность генома нейронов к накоплению повреждений.

Тезис, что когнитивные функции основаны на пластичности экспрессии нейронального генома, появился уже более 15 лет назад и сейчас подтверждается экспериментально на позвоночных [53, 54] и беспозвоночных [55, 56]. Открытое состояние хроматина и деметилирование ДНК, как правило, соответствуют более высоким когнитивным уровням [57–61]. В последнее время появились дополнительные данные, свидетельствующие о том, что не только обучение и память, но и новая среда, стимулирующая нейрогенез и обучение, на уровне генома нейронов проявляется в деконденсации хроматина [62]. Такие же эффекты вызывает двигательная активность, также стимулирующая нейрогенез и память, причем даже у потомков первого поколения [63–65]. Наконец, длительное возбуждение, по некоторым данным, также предрасполагает геном нейронов к деметилированию ДНК и/или деконденсации гетерохроматина [66–68]. Теоретически оба процесса снижают защиту ДНК от возможных мутаций, увеличивая также вероятность вставок мобильных элементов. Упомянувшееся выше накопление инделей геномом нейронов (промоторами их генов с возрастом) может быть связано с активностью мобильных элементов (см., например, Dumitrache и McKinnon [69]), а не только с репарацией разрывов ДНК.

Другими словами, за получение новой информации, мышление и пластичность мозг, по-видимому, расплачивается повреждением своей генетической информации. Однако постмитотические повреждения ДНК нейронов — это новая проблема для исследователей (пер-

вые данные получены всего 10 лет назад). В эволюционном отношении она, напротив, давняя — появилась, по-видимому, одновременно с первыми нейронами (примерно 600 млн лет). Очевидно, что так или иначе она решена в ходе эволюции и, возможно, по-разному в разных таксонах. В следующих разделах будут рассмотрены некоторые возможные эволюционные решения задачи: как минимизировать мутационную стоимость пластичности мозга и ее биологических последствий?

ВОЗМОЖНЫЕ ЭВОЛЮЦИОННЫЕ РЕШЕНИЯ СНИЖЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАТЫ ЗА ПЛАСТИЧНОСТЬ МОЗГА

Репаративные системы ДНК в головном мозге.

Достаточно очевидно, что в условиях, когда активность нейронов представляет неотъемлемый риск для стабильности их генома, одним из путей адаптации к нейрональной активности будет усовершенствование систем репарации в мозге. Действительно, нокаут генов репаративной системы, связанной с репарацией только одноцепочечных разрывов ДНК, вызвал множественные ошибки в функционально значимых участках генома, преимущественно в области энхансеров [10]. Авторы предположили, что нарушение этой системы связано с нейродегенеративными заболеваниями человека. Действительно, при любом дефиците репарации ДНК в нейронах должен возрастать риск патологий. Анализу этой взаимосвязи, так же как и изучению нейрональных систем ДНК-репарации, уделяется большое внимание в последнее время. Подробнее познакомиться с текущей ситуацией по этому вопросу можно в обзоре Li et al. [25].

Работа, вышедшая в феврале 2023 г., свидетельствует о том, что нейроны в ходе эволюции приобрели и специализированные механизмы защиты генома, которые позволяют им десятилетиями выдерживать воздействие повреждающих факторов в периоды повышенной активности [19]. Был идентифицирован механизм репарации ДНК, зависящий от активности нейрона, в котором новая форма модификатора хроматина NuA4-TIP60 собирается в активированных нейронах в районах локализации индуцируемого, специфичного для нейронов фактора транскрипции NPAS4. Исследуя картину двухцепочечных разрывов ДНК, вызванных активностью в головном мозге, авторы показали, что NPAS4–NuA4 связывается с поврежденными регуляторными элементами.

Нарушения в новой системе репарации NPAS4–NuA4 приводили к каскаду клеточных дефектов, включая нерегулируемые изменения транскрипции, потерю контроля над ингибированием нейронов и нестабильность генома, кульминацией которых может быть сокращение продолжительности жизни организма. Таким образом, был обнаружен специфический для нейронов комплекс, который напрямую связывает активность нейронов с защитой стабильности генома. Эти результаты хорошо согласуются с гипотезой о том, что одним из важных путей эволюции нервной системы должно быть усовершенствование систем репарации ДНК.

Минимизация синхронности открытых состояний хроматина и электрического возбуждения? Хотя за возбуждением нейронов часто следует повышение экспрессии генов (66–68, 70, 71), для нейрона было бы безопаснее избегать синхронности электрической активности и эпигенетических процессов, характеризующихся открытым состоянием ДНК. Еще в 1966 г. были получены первые данные на нейронах моллюсков, показавшие, что электрическая стимуляция вызывает транзиторное торможение синтеза мРНК с сильным эффектом отдачи (увеличение синтеза выше исходного уровня) после окончания электрической активности [72, 73]. Эти данные рассматривались в рамках гипотезы о перераспределении метаболизма и экономии энергии клеткой при возбуждении. Однако при современном понимании угрозы стабильности ДНК, сопровождающей возбуждение, они приобретают новое значение. Транзиторное выключение экспрессии может рассматриваться как механизм защиты нейрональной ДНК.

Другие уже упомянутые данные свидетельствуют о том, что активное remodelирование хроматина и репарация ДНК мотонейронов рыб происходят во время сна, характеризующегося также выключением электрической активности этих нейронов [32]. Несколько относительно недавних обзоров обобщают текущее состояние в области изучения временной зависимости экспрессии генов от активности нейронов у млекопитающих и модельных беспозвоночных [70, 71, 74], иллюстрируя ее сложный и неоднозначный характер.

Полиплоидия нейронов. Накопление большого количества мутаций ДНК нейронами даже здоровых людей и животных свидетельствует о том, что механизмы репарации все равно недостаточно эффективны, чтобы обеспечить стабильность нейронального генома. В такой ситуации создание «подушки гене-

тической безопасности» могло бы быть еще одним эффективным механизмом снижения биологической платы за работу нервной системы. Поскольку мутация – это случайный процесс, простое увеличение количества копий генома может выполнять роль такой подушки безопасности. При этом увеличить число копий можно по-разному. Если это сделать в пределах одного нейрона, мы столкнемся с известным явлением соматической полиплоидии в нейронах. Можно увеличить число самих нейронов, сделать много нейронов-носителей этих копий. В разных таксонах животных, по-видимому, реализовывались разные варианты этого решения. Так, позвоночные используют преимущественно последний механизм, увеличение числа клеток-носителей, а некоторые первичноротые, например, брюхоногие моллюски, но не только [75, 76] – соматическую полиплоидию.

Гигантские по размеру нейроны, достигающие 1 мм в диаметре, большую часть которых занимает ядро, были известны давно у многих брюхоногих моллюсков [77, 78]. Затем стало понятно, что гигантское ядро заполнено множественными копиями генома [78, 79]. Их число может достигать 600 000 копий (С) [76]. Долгое время считалось, что эти многочисленные копии необходимы для обеспечения метаболизма гигантской клетки и связаны с гигантизмом нейронов. С появлением данных о повреждении ДНК в нейронах логично предположить, что нейрональная полиплоидия отражает реализацию одного из эволюционных решений, позволяющих снизить последствия этих повреждений. Экспериментальные данные в пользу этой гипотезы были получены на представителе другого таксона – насекомых, у которых нейрональная полиплоидия, хотя и встречается, однако выражена значительно слабее [75]. Были подробно описаны некоторые видовые, а также сцепленные с полом и возрастом отличия по количеству полиплоидных нейронов в мозге трех разных видов дрозофил. В среднем доля полиплоидных, главным образом тетраплоидных (4С), нейронов оценивалась в 10–15% во взрослом мозге. Наибольшее число таких нейронов было обнаружено в оптических долях мозга и показано, что тетраплоидия не является результатом клеточного слияния (cell fusion). Интересно, что именно в оптических областях выявлено и наибольшее число двухцепочечных разрывов ДНК в нейронах. Наконец, используя фармакологический метод (введение этопозида) для образования двухцепочечных разрывов ДНК, обнаружили, что ответом на такое

воздействие стало достоверное увеличение доли полиплоидных нейронов. И, возможно, самое главное – полиплоидные нейроны лучше выживали по сравнению с диплоидными при вызванных повреждениях ДНК [75]. Таким образом, эта работа подтвердила сразу два предположения, касающиеся роли нейрональной полиплоидии. Первое – полиплоидия действительно может защищать клетку при повреждении ДНК, второе – в нейронах существует механизм активации эндорепликации ДНК в ответ на повреждение ДНК.

Очевидно, эти данные заставляют по-новому взглянуть и на явление нейрональной полиплоидии в мозге человека. Ранее уже была выявлена корреляция между нейродегенеративными заболеваниями и увеличением числа полиплоидных нейронов, и какое-то время полиплоидия рассматривалась как возможная причина патологии [80, 81]. Однако сейчас более вероятным представляется взгляд, что полиплоидия возникла в ответ на повреждения ДНК (которые являются, по-видимому, основной причиной нейродегенерации) как попытка реализовать один из защитных механизмов нейрона.

«Альтруистические» нейроны позвоночных и глутамат. Если сравнить эффективность двух решений увеличения копий генома (в пределах одной клетки или путем создания множественных клеточных носителей этих копий), то соматическая полиплоидия представляется сравнительно худшим решением. Во-первых, здоровые копии поврежденного гена в полиплоидной клетке будут выполнять свою защитную функцию только до тех пор, пока мутация не приведет к синтезу «токсичных» продуктов, губительных для функционирования клетки. Во-вторых, она не дает возможность пожертвовать поврежденным нейроном без тяжелых последствий для остального мозга. Как уже упоминалось выше, мозг позвоночных, по-видимому, избрал второй путь. Накопившие мутации и повреждения ДНК нейроны погибают, но их эпигенетические и функциональные клоны сохраняют необходимую информацию, которая остается пригодной для использования. Кроме того, избыточность представляет условия для распределенной активности между нейронами, что снижает мутационную нагрузку на каждую клетку в отдельности и позволяет организму дольше сохранять нейроны. Это предположение хорошо согласуется с многочисленными данными о том, что одна и та же задача выполняется каждый раз несколько разными популяциями нейронов [82, 83].

Если мы рассмотрим эволюцию мозга позвоночных с этой точки зрения, то сможем утверждать, что быстрое увеличение числа нейронов в эволюции позвоночных служило, по-видимому, в первую очередь защите мозга и обеспечению необходимой продолжительности жизни организма. Однако одновременно оно оказалось преадаптацией к развитию когнитивных способностей. С этим предположением хорошо согласуются данные об увеличении размеров мозга человека в эволюции, не сопровождавшемся в течение миллионов лет усложнением орудий труда [84]. А также патогенез некоторых нейродегенеративных заболеваний, например болезни Паркинсона, при которых происходит бессимптомная гибель до 30–70% нейронов в разных областях мозга [85]. Эти данные свидетельствуют об огромной подушке безопасности в человеческом мозге в виде большого числа эпигенетически похожих и взаимозаменяемых нейронов.

Функциональному пересмотру может быть подвержен и взрослый нейрогенез. Раньше его активация рассматривалась как механизм повышения когнитивной активности, способности обучаться и запоминать информацию в новой среде [86]. Теперь его можно рассматривать и как защитный механизм, срабатывающий при ожидании повышенной когнитивной нагрузки.

Появившиеся в последнее время данные свидетельствуют о том, что в эволюции мозга позвоночных увеличение числа нейронов было достигнуто в основном благодаря увеличению доли глутаматных нейронов [87]. Если у грызунов она определяется в 50%, то у человека – достигает уже 80% [87]. Это выглядит парадоксально, поскольку более сложные системы обычно более разнообразны. Если предположить, что дополнительные нейроны нужны были сначала как подушка безопасности, как дополнительный запас хранителей генома, то в этом есть смысл. Почему глутаматергический фенотип мог быть использован для этой цели, было хорошо объяснено в нескольких недавних публикациях Moroz et al. [87–89]. Если пересказать кратко, то потому что развитие глутаматергического фенотипа энергетически дешево и эпигенетически просто (требуется экспрессировать только везикулярный переносчик глутамата, сама глутаминовая кислота присутствует во всех клетках как основной метаболит). Еще одним интересным открытием является то, что позвоночные утратили разнообразие глутаматных рецепторов, по сравнению с другими группами, и сохранили только возбуждающие типы рецепторов [87].

Интересно подумать о том, какие преимущества могли быть при этом получены.

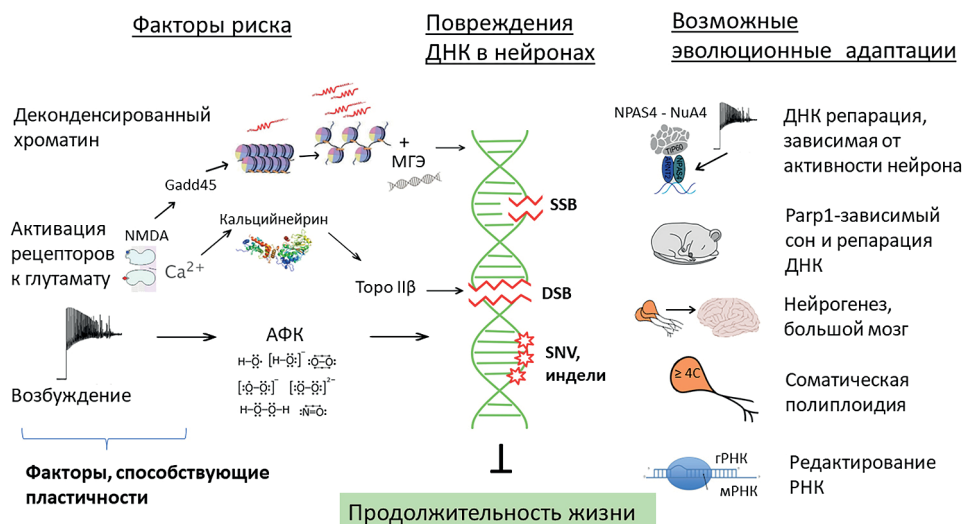
Возбудимость на физиологическом уровне обеспечивает условия для выхода из устойчивых состояний и образования новых ансамблей нейронов. Еще большей пластичности и разнообразия можно добиться при повышении пластичности эпигенома. Действительно, имеются данные о внутриклеточных каскадах, связывающих глутаматные рецепторы NMDA и AMPA с фактором декомпактизации гетерохроматина Gadd45 [90]. То есть возбуждающий глутамат, по-видимому, связан с обеими функциями, повышающими пластичность, на физиологическом и эпигенетическом уровне. В этом может быть еще одно преимущество этого нейронального транскриптерного фенотипа. Однако глутамат через ионотропные рецепторы стимулирует образование разрывов ДНК и их репарацию [91], а возбуждение, как уже упоминалось, сокращает продолжительность жизни [27]. Если это так, то ставка на глутаматный фенотип нейронов в эволюции позвоночных могла и должна была простимулировать естественный отбор на раскручивание процесса увеличения числа нейронов для снижения биологической платы за повреждение ДНК при глутаматергической сигнализации [92].

Перенос пластичности на уровень РНК у головоногих моллюсков. Нестабильность ДНК в нейронах могла стать причиной еще одного интересного явления, найденного сравнительно недавно у головоногих моллюсков. Речь идет о модификации транскриптов на уровне РНК, которая подвергается масштабному редактированию (или рекодированию) и особенно в нервной системе, где практически все транскрипты подвергаются редактированию [93, 94]. При этом 65% сайтов редактирования, обнаруженных в кодирующих последовательностях, являются несинонимичными. Только один вид редактирования, а именно A-to-I (замена аденозина на инозин), происходит по более чем 70 000 сайтов у головоногих, в отличие от ~1000 сайтов – у дрозофилы и ~3000 – у человека [95]. При этом, в отличие от млекопитающих, у головоногих есть явные признаки отбора на увеличение сайтов редактирования РНК функционально значимых генов [93, 95]. Показано, что редактирование отражается на структуре и функции белков [93]. Для одного случая (рекодирование транскрипта белка калиевого канала) даже найдено биологическое значение в адаптации к разной температуре обитания у осьминогов [96].

Однако самой важной находкой стала демонстрация «защитной роли» редактирования РНК для сохранения стабильности генома. Она послужила названием для статьи «Trade-off between transcriptome plasticity and genome evolution in cephalopods» [93]. Когда оценили распределение мутаций, таких как делеции, синонимичные и несинонимичные однонуклеотидные замены, то оказалось, что меньше всего их накапливают области ДНК, близко расположенные к сайтам редактирования РНК. В целом, у разных видов головоногих от 23 до 41% генома оказалось стабилизировано, эти участки совпали с областями транскрипции редактируемых РНК. Механизмы такого переноса пластичности остаются еще не изученными. Можно предположить, что драйвером к процессу переноса пластичности на уровень РНК могла стать защита именно нестабильной ДНК нейронов. Возможно, это нестандартное решение в сочетании с увеличением числа нейронов обеспечило и выдающуюся когнитивную эволюцию головоногих моллюсков, занимающих первое место среди первичноротых по уровню развития умственных способностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, произошедшее в последнее десятилетие осознание постмитотической нестабильности ДНК нейронов, как платы за их электрическую активность и высокую пластичность их генома, меняет теоретический ландшафт не только нейронауки, но и шире – биологии. Действительно, как предполагал А.М. Оловников, именно ДНК нейронов может быть счетчиком продолжительности жизни, сейчас накоплено уже много данных, существенно повысивших вероятность этой гипотезы. Кроме того, нестабильность ДНК нейронов, очевидно, сопровождалась поиском разных способов снижения биологической платы за работу мозга в эволюции Metazoa, став своеобразным драйвером этой эволюции. Такие явления, как сон, увеличение числа нейронов в эволюции позвоночных, взрослый нейрогенез, распределенная активность нейронов, соматическая полиплоидия, редактирование РНК, приобретают новый смысл и новое понимание при рассмотрении их в свете решения компромисса «пластичность–нестабильность нейрональной ДНК». Тема имеет очевидное значение не только для фундаментальной нейронауки, но и для трансляционной медицины. Коротко изложенный материал



Основные факторы риска для стабильности ДНК в нейронах, выявленные виды повреждений ДНК и возможные эволюционные адаптации, снижающие биологическую плату за нестабильность нейрональной ДНК. Факторами риска являются высокий энергетический метаболизм нейронов, образование активных форм кислорода (АФК), нейрональное возбуждение, активация глутаматом рецепторов NMDA-типа. Активация NMDA рецепторов ведет к образованию двухцепочечных разрывов ДНК в областях промоторов генов раннего ответа, вызывая их экспрессию и последующую репарацию ДНК. Механизм этого влияния включает повышение концентрации внутриклеточного кальция, активацию кальцийнейрина, фосфорилирующего Торо IIβ. Кроме того, к факторам риска можно отнести изменения состояния хроматина, его деконденсацию, которая повышает уязвимость ДНК к различным мутагенам, в том числе мобильным генетическим элементам (MGEs). Деконденсация хроматина может осуществляться также через глутаматные рецепторы путем активации гетерохроматина Gadd45. Все перечисленное относится к факторам, необходимым для нормального функционирования ЦНС, которые обеспечивают ее пластичность и когнитивные функции. В настоящее время активно исследуется накопление следующих видов повреждений нейрональной ДНК (двух- и одноцепочечные разрывы, одиночные замены нуклеотидов (SNV), инсерции и делеции (индели)) (см. таблицу). Эти повреждения прямо или косвенно могут приводить к нейродегенеративным заболеваниям и, предположительно, определять продолжительность жизни. К числу возможных эволюционных адаптаций, позволяющих снизить плату за нестабильность ДНК в нейронах, можно отнести: репарацию ДНК, зависящую от электрической активности нейрона (NPAS4—NuA4), Rap1-зависимую репарацию двухцепочечных разрывов, накопленных во время дневной активности животного, и активирующую сон у позвоночных, нейрогенез и увеличение числа нейронов в ЦНС, соматическую полиплоидию, особенно выраженную у представителей Gastropoda, а также редактирование мРНК и перенос пластичности с ДНК на уровень РНК, выявленный у головоногих моллюсков

представлен на схеме (рисунок), иллюстрирующей основные факторы риска, виды повреждений нейрональной ДНК и возможные эволюционные адаптации, снижающие биологическую плату за нестабильность ДНК.

Конечно, остается еще много вопросов, требующих экспериментальной проверки и являющихся вызовом сегодняшнего дня для молекулярной нейробиологии. Особенно это касается нейробиологии беспозвоночных, объекты которой представляют уникальные экспериментальные возможности. Остается ряд нерешенных актуальных задач, требующий исследования.

(1) Проверка предположения о том, что возбуждение нейронов влияет не только на образование двухцепочечных разрывов, но и на накопление повреждений и мутаций ДНК нейронов. Это может быть сделано с помощью оптогенетических подходов у *C. elegance*, *D. melanogaster* или с помощью электрофизио-

логических стимуляций у брюхоногих моллюсков с их гигантскими нейронами, удобными для идентификации, изоляции и микроэлектродной электрофизиологии. Секвенирование ДНК нейронов у указанных видов можно проводить либо на нейронах с существенными исходными различиями в их электрической активности, либо на одних и тех же нейронах при наличии и отсутствии электрической стимуляции.

(2) Поиск конкретных генетических и эпигенетических изменений, которые predisполагают животных с более высокими когнитивными способностями к более короткой жизни, снижению стрессоустойчивости и плодовитости. Начатые исследования [46–52] желательны продолжить на уровне ДНК нейронов и эпигенетической регуляции генома нейронов. В частности, можно выяснить: проявляют ли гены, связанные с возбуждением нейронов или открытым состоянием хроматина и ДНК,

более высокую экспрессию у «умных» беспозвоночных? Накапливают ли «умные» животные больше мутаций? Являются ли биологические издержки (неустойчивость к стрессу, низкая плодовитость и продолжительность жизни), наблюдаемые у «умных» животных, прямым следствием накопления мутаций?

(3) Поиск хрономера или другого нейронального внутриклеточного субстрата, отвечающего за регуляцию продолжительности жизни, также удобнее выполнить на беспозвоночных.

(4) Неожиданно оказалось, что в свете новых данных о влиянии нейрональной активности на повреждение ДНК нейронов мы не можем дать убедительного объяснения/обоснования пользы когнитивной нагрузки для здоровья мозга, которой придается сейчас столь большое значение. Можно только предполагать нечто сходное с гипоксическими или

ишемическими тренировками, прекодиционированием к когнитивной нагрузке. Но в чем конкретном будут заключаться механизмы этого когнитивного прекодиционирования, нам все еще предстоит узнать.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-00318).

Благодарности. Выражаю благодарность А.И. Калмыковой, И.А. Оловникову и И.С. Захарову за советы и замечания при редактировании, а также Д.Д. Воронцову за помощь при подготовке рисунка.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Работа выполнена без привлечения животных и людей в качестве испытуемых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **201**, 1496-1499.
- Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
- Оловников А. М. (2022) Планетарный метроном как регулятор продолжительности жизни и темпа старения: метрономная гипотеза, *Биохимия*, **87**, 2019-2022.
- Оловников А. М. (2003) Редусомная гипотеза старения и контроля биологического времени в индивидуальном развитии, *Биохимия*, **68**, 7-41.
- Dyakonova, V. E. (2020) Neuronal counter of the life span: does it exist? *Russ. J. Dev. Biol.*, **51**, 197-200, doi: 10.1134/S1062360420030066.
- Suberbielle, E., Sanchez, P. E., Kravitz, A. V., Wang, X., Ho, K., Eilertson, K., Devidze, N., Kreitzer, A. C., and Mucke, L. (2013) Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid- β , *Nat. Neurosci.*, **16**, 613-621, doi: 10.1038/nn.3356.
- Madabhushi, R., Gao, F., Pfenning, A. R., Pan, L., Yamakawa, S., Seo, J., Rueda, R., Phan, T. X., Yamakawa, H., Pao, P. C., Stott, R. T., Gjoneska, E., Nott, A., Cho, S., Kellis, M., and Tsai, L. H. (2015) Activity-induced DNA breaks govern the expression of neuronal early-response genes, *Cell*, **161**, 1592-1605, doi: 10.1016/j.cell.2015.05.032.
- Delint-Ramirez, I., Konada, L., Heady, L., Rueda, R., Jacome, A. S. V., Marlin, E., Marchioni, C., Segev, A., Kritskiy, O., Yamakawa, S., Reiter, A. H., Tsai, L. H., and Madabhushi, R. (2022) Calcineurin dephosphorylates topoisomerase II β and regulates the formation of neuronal-activity-induced DNA breaks, *Mol. Cell*, **82**, 3794-3809.e8, doi: 10.1016/j.molcel.2022.09.012.
- Shadfar, S., Parakh, S., Jamali, M. S., and Atkin, J. D. (2023) Redox dysregulation as a driver for DNA damage and its relationship to neurodegenerative diseases, *Transl. Neurodegener.*, **12**, 18, doi: 10.1186/s40035-023-00350-4.
- Wu, W., Hill, S. E., Nathan, W. J., Paiano, J., Callen, E., Wang, D., Shinoda, K., van Wietmarschen, N., Colón-Mercado, J. M., Zong, D., De Pace, R., Shih, H. Y., Coon, S., Parsadanian, M., Pavani, R., Hanzlikova, H., Park, S., Jung, S. K., McHugh, P. J., Canela, A., Chen, C., Casellas, R., Caldecott, K. W., Ward, M. E., and Nussenzweig, A. (2021) Neuronal enhancers are hotspots for DNA single-strand break repair, *Nature*, **593**, 440-444, doi: 10.1038/s41586-021-03468-5.
- Dileep, V., and Tsai, L. H. (2021) Neuronal enhancers get a break, *Neuron*, **109**, 1766-1768, doi: 10.1016/j.neuron.2021.05.008.
- Reid, D. A., Reed, P. J., Schlachetzki, J. C. M., Nitulescu, I. I., Chou, G., Tsui, E. C., Jones, J. R., Chandran, S., Lu, A. T., McClain, C. A., Ooi, J. H., Wang, T. W., Lana, A. J., Linker, S. B., Ricciardulli, A. S., Lau, S., Schafer, S. T., Horvath, S., Dixon, J. R., Hah, N., Glass, C. K., and Gage, F. H. (2021) Incorporation of a nucleoside analog maps genome repair sites in postmitotic human neurons, *Science*, **372**, 91-94, doi: 10.1126/science.abb9032.

13. Крушинский А. Л. (2013) Биофизические аспекты рассудочной деятельности, В кн.: «Формирование поведения животных в норме и патологии. к 100-летию со дня рождения Л. В. Крушинского (1911-1984)», Языки славянской культуры (под редакцией И.И. Полетаевой, З.А. Зориной), Москва, стр. 424-436.
14. Крушинский А. Л. (2015) Плата за решение задачи: биофизические предпосылки и возможные эволюционные последствия, *Российский журнал когнитивной науки*, **2**, 52-61.
15. Navabpour, S., Rogers, J., McFadden, T., and Jarome, T. J. (2020) DNA double-strand breaks are a critical regulator of fear memory reconsolidation, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 8995, doi: 10.3390/ijms21238995.
16. Weber Boutros, S., Unni, V. K., and Raber, J. (2022) An adaptive role for DNA double-strand breaks in hippocampus-dependent learning and memory, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 8352, doi: 10.3390/ijms23158352.
17. Konopka, A., and Atkin, J. D. (2022) The role of DNA damage in neural plasticity in physiology and neurodegeneration, *Front. Cell Neurosci.*, **16**, 836885, doi: 10.3389/fncel.2022.836885.
18. Welch, G., and Tsai, L. H. (2022) Mechanisms of DNA damage-mediated neurotoxicity in neurodegenerative disease, *EMBO Rep.*, **23**, e54217, doi: 10.15252/embr.20215421.
19. Pollina, E. A., Gilliam, D. T., Landau, A. T., Lin, C., Pajarillo, N., Davis, C. P., Harmin, D. A., Yap, E. L., Vogel, I. R., Griffith, E. C., Nagy, M. A., Ling, E., Duffy, E. E., Sabatini, B. L., Weitz, C. J., and Greenberg, M. E. (2023) A NPAS4–NuA4 complex couples synaptic activity to DNA repair, *Nature*, **614**, 732-741, doi: 10.1038/s41586-023-05711-7.
20. Hazen, J. L., Faust, G. G., Rodriguez, A. R., Ferguson, W. C., Shumilina, S., Clark, R. A., Boland, M. J., Martin, G., Chubukov, P., Tsunemoto, R. K., Torkamani, A., Kupriyanov, S., Hall, I. M., and Baldwin, K. K. (2016) The complete genome sequences, unique mutational spectra, and developmental potency of adult neurons revealed by cloning, *Neuron*, **89**, 1223-1236, doi: 10.1016/j.neuron.2016.02.004.
21. Evrony, G. D., Cai, X., Lee, E., Hills, L. B., Elhosary, P. C., Lehmann, H. S., Parker, J. J., Atabay, K. D., Gilmore, E. C., Poduri, A., Park, P. J., and Walsh, C. A. (2012) Single-neuron sequencing analysis of L1 retrotransposition and somatic mutation in the human brain, *Cell*, **151**, 483-496, doi: 10.1016/j.cell.2012.09.035.
22. Bizzotto, S., and Walsh, C. A. (2022) Genetic mosaicism in the human brain: from lineage tracing to neuropsychiatric disorders, *Nat. Rev. Neurosci.*, **23**, 275-286, doi: 10.1038/s41583-022-00572-x.
23. Luquette, L. J., Miller, M. B., Zhou, Z., Bohrsen, C. L., Zhao, Y., Jin, H., Gulhan, D., Ganz, J., Bizzotto, S., Kirkham, S., Hochepped, T., Libert, C., Galor, A., Kim, J., Lodato, M. A., Garaycochea, J. I., Gawad, C., West, J., Walsh, C. A., and Park, P. J. (2022) Single-cell genome sequencing of human neurons identifies somatic point mutation and indel enrichment in regulatory elements, *Nat. Genet.*, **54**, 1564-1571, doi: 10.1038/s41588-022-01180-2.
24. Lodato, M., Rodin, R. E., Bohrsen, C. L., Coulter, M. E., Barton, A. R., Kwon, M., Sherman, M. A., Vitzthum, C. M., Luquette, L. J., Yandava, C. N., Yang, P., Chittenden, T. W., Hatem, N. E., Ryu, S. C., Woodworth, M. B., Park, P. J., and Walsh, C. A. (2018) Aging and neurodegeneration are associated with increased mutations in single human neurons, *Science*, **359**, 555-559, doi: 10.1126/science.aao4426.
25. Li, X., Cao, G., Liu, X., Tang, T. S., Guo, C., and Liu, H. (2022) Polymerases and DNA repair in neurons: implications in neuronal survival and neurodegenerative diseases, *Front. Cell Neurosci.*, **16**, 852002, doi: 10.3389/fncel.2022.852002.
26. Scheijen, E. E. M., and Wilson, D. M. 3rd. (2022) Genome integrity and neurological disease, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 4142, doi: 10.3390/ijms23084142.
27. Zullo, J. M., Drake, D., Aron, L., O'Hern, P., Dhamne, S. C., Davidsohn, N., Mao, C. A., Klein, W. H., Rotenberg, A., Bennett, D. A., Church, G. M., Colaiácovo, M. P., and Yankner, B. A. (2019) Regulation of lifespan by neural excitation and REST, *Nature*, **574**, 359-364, doi: 10.1038/s41586-019-1647-8.
28. Lu, T., Aron, L., Zullo, J., Pan, Y., Kim, H., Chen, Y., Yang, T. H., Kim, H. M., Drake, D., Liu, X. S., Bennett, D. A., Colaiácovo, M. P., and Yankner, B. A. (2014) REST and stress resistance in ageing and Alzheimer's disease, *Nature*, **507**, 448-454, doi: 10.1038/nature13163.
29. Cruces, M. P., González, E., Pimentel, E., Jiménez, E., and Sánchez, P. (2022) Relationship between lifespan and somatic mutation in *D. melanogaster* after treatment with chlorophyllin, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **93**, 103891, doi: 10.1016/j.etap.2022.103891.
30. Cagan, A., Baez-Ortega, A., Brzozowska, N., Abascal, F., Coorens, T. H. H., Sanders, M. A., Lawson, A. R. J., Harvey, L. M. R., Bhosle, S., Jones, D., Alcantara, R. E., Butler, T. M., Hooks, Y., Roberts, K., Anderson, E., Lunn, S., Flach, E., Spiro, S., Januszczak, I., Wigglesworth, E., Jenkins, H., Dallas, T., Masters, N., Perkins, M. W., Deaville, R., Druce, M., Bogeska, R., Milsom, M. D., Neumann, B., Gorman, F., Constantino-Casas, F., Peachey, L., Bochynska, D., Smith, E. S. J., Gerstung, M., Campbell, P. J., Murchison, E. P., Stratton, M. R., and Martincorena, I. (2022) Somatic mutation rates scale with lifespan across mammals, *Nature*, **604**, 517-524, doi: 10.1038/s41586-022-04618-z.
31. Shen, X., Song, S., Li, C., and Zhang, J. (2022) Synonymous mutations in representative yeast genes are mostly strongly non-neutral, *Nature*, **606**, 725-731, doi: 10.1038/s41586-022-04823-w.

32. Zada, D., Bronshtein, I., Lerer-Goldshtein, T., Garini, Y., and Appelbaum, L. (2019) Sleep increases chromosome dynamics to enable reduction of accumulating DNA damage in single neurons, *Nat. Commun.*, **10**, 895, doi: 10.1038/s41467-019-08806-w.
33. Zada, D., Sela, Y., Matosevich, N., Monsonego, A., Lerer-Goldshtein, T., Nir, Y., and Appelbaum, L. (2021) Parp1 promotes sleep, which enhances DNA repair in neurons, *Mol. Cell.*, **81**, 4979-4993.e7, doi: 10.1016/j.molcel.2021.10.026.
34. Акифьев А. П., Потапенко А. И. (2001) Ядерный генетический материал как инициальный субстрат старения животных, *Генетика*, **37**, 1445-1458.
35. Ломброзо Ч. (1892) *Гениальность и помешательство*, Издание Ф. Павленкова, СПб.
36. Gale, C. R., Batty, G. D., McIntosh, A. M., Porteous, D. J., Deary, I. J., and Rasmussen, F. (2013) Is bipolar disorder more common in highly intelligent people? A cohort study of a million men, *Mol. Psychiatry*, **18**, 190-194, doi: 10.1038/mp.2012.26.
37. Smith, D. J., Anderson, J., Zammit, S., Meyer, T. D., Pell, J. P., and Mackay, D. (2015) Childhood IQ and risk of bipolar disorder in adulthood: prospective birth cohort study, *BJPsych. Open*, **1**, 74-80, doi: 10.1192/bjpo.bp.115.000455.
38. Deary, I. J. (2012) Looking for 'system integrity' in cognitive epidemiology, *Gerontology*, **58**, 545-553, doi: 10.1159/000341157.
39. Power, R. A., Steinberg, S., Bjornsdottir, G., Rietveld, C. A., Abdellaoui, A., Nivard, M. M., Johannesson, M., Galesloot, T. E., Hottenga, J. J., Willemsen, G., Cesarini, D., Benjamin, D. J., Magnusson, P. K., Ullén, F., Tiemeier, H., Hofman, A., van Rooij, F. J., Walters, G. B., Sigurdsson, E., Thorgeirsson, T. E., Ingason, A., Helgason, A., Kong, A., Kiemenev, L. A., Koellinger, P., Boomsma, D. I., Gudbjartsson, D., Stefansson, H., and Stefansson, K. (2015) Polygenic risk scores for schizophrenia and bipolar disorder predict creativity, *Nature Neuroscience*, **18**, 953-955, doi: 10.1038/nn.4040.
40. Demange, P. A., Malanchini, M., Mallard, T. T., Biroli, P., Cox, S. R., Grotzinger, A. D., Tucker-Drob, E. M., Abdellaoui, A., Arseneault, L., van Bergen, E., Boomsma, D. I., Caspi, A., Corcoran, D. L., Domingue, B. W., Harris, K. M., Ip, H. F., Mitchell, C., Moffitt, T. E., Poulton, R., Prinz, J. A., Sugden, K., Wertz, J., Williams, B. S., de Zeeuw, E. L., Belsky, D. W., Harden, K. P., and Nivard, M. G. (2021) Investigating the genetic architecture of noncognitive skills using GWAS-by-subtraction, *Nat. Genet.*, **53**, 35-44, doi: 10.1038/s41588-020-00754-2.
41. Золотарева Н. Н., Крушинская Н. Л., Дмитриева И. Л. (1987) Сравнительная характеристика метаболизма самцов крыс линии Трайона (Tryon maze dull and Tryon maze bright) и возможность прогнозирования их социального статуса по биохимическим показателям, *Доклады АН СССР*, **292**, 751-755.
42. Семиохина А. Ф., Очинская Е. И., Рубцова Н. Б., Крушинский Л. В. (1976) Новое в изучении экспериментальных неврозов, вызванных перенапряжением высшей нервной деятельности, *Доклады АН СССР*, **231**, 503-505.
43. Хоничева Н. М., Гуляева Н. В., Жданова И. В., Обедин А. Б., Дмитриева И. Л., Крушинская Н. Л. (1986) Тип поведения и активность супероксид-дисмутазы в головном мозге у крыс (сравнение 2-х линий крыс), *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, **102**, 643-645.
44. Amit, Z., and Smith, B. R. (1992) Differential ethanol intake in Tryon maze-bright and Tryon maze-dull rats: implications for the validity of the animal model of selectively bred rats for high ethanol consumption, *Psychopharmacology*, **108**, 136-140, doi: 10.1007/BF02245298.
45. Дьяконова В. Е. (2015) Сколько стоят когнитивные способности? *Российский журнал когнитивной науки*, **2**, 70-77.
46. Mery, F., and Kawecki, T. J. (2002) Experimental evolution of learning ability in fruit flies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14274-14279, doi:10.1073/pnas.222371199.
47. Mery, F., and Kawecki, T. J. (2003) A fitness cost of learning ability in *Drosophila melanogaster*, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **270**, 2465-2469, doi: 10.1098/rspb.2003.2548.
48. Mery, F., and Kawecki, T. J. (2005) A cost of long-term memory in *Drosophila*, *Science*, **308**, 1148-1148, doi: 10.1126/science.1111331.
49. Burger, J., Kolss, M., Pont, J., and Kawecki, T. J. (2008) Learning ability and longevity: A symmetrical evolutionary trade-off in *Drosophila*, *Evolution*, **62**, 1294-1304, doi: 10.1111/j.1558-5646.2008.00376.x.
50. Burns, J. G., Foucaud, J., and Mery, F. (2011) Costs of memory: lessons from 'mini' brains, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **278**, 923-929, doi:10.1098/rsbl.2008.0514.
51. Dalesman, S., and Lukowiak, K. (2012) How stress alters memory in 'smart' snails, *PLoS One*, **7**, e32334, doi: 10.1371/journal.pone.0032334.
52. Hughes, E., Shymansky, T., Swinton, E., Lukowiak, K. S., Swinton, C., Sunada, H., Protheroe, A., Phillips, I., and Lukowiak, K. (2017) Strain-specific differences of the effects of stress on memory in *Lymnaea*, *J. Exp. Biol.*, **220**, 891-899, doi: 10.1242/jeb.149161.
53. Borodinova, A. A., and Balaban, P. M. (2020) Epigenetic regulation as a basis for long-term changes in the nervous system: in search of specificity mechanisms, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 994-966, doi: 10.1134/S0006297920090023.
54. Borodinova, A. A., Kuznetsova, M. A., Alekseeva, V. S., and Balaban, P. M. (2019) Histone acetylation determines transcription of atypical protein kinases in rat neurons, *Sci. Rep.*, **9**, 4332, doi: 10.1038/s41598-019-40823-z.

55. Shimaji, K., Tomida, S., Yamaguchi, M. (2019) Regulation of animal behavior by epigenetic regulators, *Front. Biosci. (Landmark Ed)*, **24**, 1071-1084, doi: 10.2741/4769.
56. Zuzina, A. B., Vinarskaya, A. K., and Balaban, P. M. (2020) Histone deacetylase inhibitors rescue the impaired memory in terrestrial snails, *J. Comp. Physiol. A*, **206**, 639-649, doi: 10.1007/s00359-020-01422-w.
57. Levenson, J. M., and Sweatt, J. (2005) Epigenetic mechanisms in memory formation, *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 108-118, doi: 10.1038/nrn1604.
58. Reolon, G. K., Maurmann, N., Werenicz, A., Garcia, V. A., Schröder, N., Wood, M. A., and Roesler, R. (2011) Posttraining systemic administration of the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate ameliorates aging-related memory decline in rats, *Behav. Brain Res.*, **221**, 329-332, doi: 10.1016/j.bbr.2011.03.033.
59. Benjamin, J. S., Pilarowski, G. O., Carosso, G. A., Zhang, L., Huso, D. L., Goff, L. A., Vernon, H. J., Hansen, K. D., and Bjornsson, H. T. (2017) A ketogenic diet rescues hippocampal memory defects in a mouse model of Kabuki syndrome, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 125-130, doi: 10.1073/pnas.1611431114.
60. Bjornsson, H. T., Benjamin, J. S., Zhang, L., Weissman, J., Gerber, E. E., Chen, Y. C., Vaurio, R. G., Potter, M. C., Hansen, K. D., and Dietz, H. C. (2014) Histone deacetylase inhibition rescues structural and functional brain deficits in a mouse model of Kabuki syndrome, *Sci. Transl. Med.*, **6**, 256ra135, doi: 10.1126/scitranslmed.3009278.
61. Sweatt, J. D. (2016) Neural plasticity and behavior – sixty years of conceptual advances, *J. Neurochem.*, **139** (Suppl 2), 179-199, doi: 10.1111/jnc.13580.
62. Espeso-Gil, S., Holik, A. Z., Bonnin, S., Jhanwar, S., Chandrasekaran, S., Pique-Regi, R., Albaigès-Ràfols, J., Maher, M., Permanyer, J., Irimia, M., Friedländer, M. R., Pons-Espinal, M., Akbarian, S., Dierssen, M., Maass, P. G., Hor, C. N., and Ossowski, S. (2021) Environmental enrichment induces epigenomic and genome organization changes relevant for cognition, *Front. Mol. Neurosci.*, **14**, 664912, doi: 10.3389/fnmol.2021.664912.
63. McGreevy, K. R., Tezanos, P., Ferreira-Villar, I., Pallé, A., Moreno-Serrano, M., Esteve-Codina, A., Lamas-Toranzo, I., Bermejo-Álvarez, P., Fernández-Punzano, J., Martín-Montalvo, A., Montalbán, R., Ferrón, S. R., Radford, E. J., Fontán-Lozano, Á., and Trejo, J. L. (2019) Intergenerational transmission of the positive effects of physical exercise on brain and cognition, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 10103-10112, doi: 10.1073/pnas.1816781116.
64. Mezheritskiy, M. I., and Dyakonova, V. E. (2022) Direct and inherited epigenetic changes in the nervous system caused by intensive locomotion: possible adaptive significance, *Russ. J. Dev. Biol.*, **53**, 317-331, doi: 10.1134/S1062360422050058.
65. Yang, Y., Lagisz, M., Foo, Y. Z., Noble, D. W. A., Anwer, H., and Nakagawa, S. (2021) Beneficial intergenerational effects of exercise on brain and cognition: a multilevel meta-analysis of mean and variance, *Biol. Rev.*, **96**, 1504-1527, doi: 10.1111/brv.12712.
66. Grassi, D., Franz, H., Vezzali, R., Bovio, P., Heidrich, S., Dehghanian, F., Lagunas, N., Belzung, C., Krieglstein, K., and Vogel, T. (2017) Neuronal activity, tgfb β -signaling and unpredictable chronic stress modulate transcription of gadd45 family members and DNA methylation in the hippocampus, *Cereb. Cortex*, **27**, 4166-4181, doi: 10.1093/cercor/bhx095.
67. Guo, J. U., Ma, D. K., Mo, H., Ball, M. P., Jang, M. H., Bonaguidi, M. A., Balazer, J. A., Eaves, H. L., Xie, B., Ford, E., Zhang, K., Ming, G. L., Gao, Y., and Song, H. (2011) Neuronal activity modifies the DNA methylation landscape in the adult brain, *Nat. Neurosci.*, **14**, 1345-1351, doi: 10.1038/nn.2900.
68. Su, Y., Shin, J., Zhong, C., Wang, S., Roychowdhury, P., Lim, J., Kim, D., Ming, G. L., and Song, H. (2017) Neuronal activity modifies the chromatin accessibility landscape in the adult brain, *Nat. Neurosci.*, **20**, 476-483, doi: 10.1038/nn.4494.
69. Dumitrache, L. C., and McKinnon, P. J. (2022) Out of LINE: Transposons, genome integrity, and neurodegeneration. *Neuron*, **110**, 3217-3219, doi: 10.1016/j.neuron.2022.09.026.
70. Beagan, J. A., Pastuzyn, E. D., Fernandez, L. R., Guo, M. H., Feng, K., Titus, K. R., Chandrashekar, H., Shepherd, J. D., and Phillips-Cremins, J. E. (2020) Three-dimensional genome restructuring across timescales of activity-induced neuronal gene expression, *Nat. Neurosci.*, **23**, 707-717, doi: 10.1038/s41593-020-0634-6.
71. Belgrad, J., and Fields, R. D. (2018) Epigenome interactions with patterned neuronal activity, *Neuroscientist*, **24**, 471-485, doi: 10.1177/1073858418760744.
72. Bocharova, L. S., Borovyagin, V. L., Dyakonova, T. L., Warton, S. S., and Veprintsev, B. N. (1972) Ultrastructure and RNA synthesis in a molluscan giant neuron under electrical stimulation, *Brain Res.*, **36**, 371-84, doi: 10.1016/0006-8993(72)90741-x.
73. D'Yakonova, T. L., Veprintsev, B. N., Chapas, A. F., and Brodskii, V. Y. (1966) Induction of RNA synthesis in neurons by electrical activity, *Fed. Proc. Transl. Suppl.*, **25**, 901-904.
74. Lee, P. R., and Fields, R. D. (2021) Activity-dependent gene expression in neurons, *Neuroscientist*, **27**, 355-366, doi: 10.1177/1073858420943515.
75. Nandakumar, S., Grushko, O., and Buttitta, L. A. (2020) Polyploidy in the adult *Drosophila* brain, *Elife*, **9**, e54385, doi: 10.7554/eLife.54385.
76. Nandakumar, S., Rozich, E., and Buttitta, L. (2021) Cell cycle re-entry in the nervous system: from polyploidy to neurodegeneration, *Front. Cell. Dev.*, **9**, 698661, doi: 10.3389/fcell.2021.698661.

77. Боровягин В. Л., Сахаров Д. А. (1968) *Ультраструктура гигантских нейронов тритонии*. Атлас, Наука, Москва.
78. Сахаров Д. А. (1974) *Генеалогия нейронов*, Наука, Москва.
79. Кирсанова И. А., Анисимов А. П. (2000) Соматическая полиплоидия в нейронах брюхоногих моллюсков. I. Морфологическая характеристика ганглиев и нейронов ЦНС улитки янтарки, *Цитология*, **42**, 733-739.
80. Arendt, T., Brückner, M. K., Mosch, B., and Lösche, A. (2010) Selective cell death of hyperploid neurons in Alzheimer's disease, *Am. J. Pathol.*, **177**, 15-20, doi: 10.2353/ajpath.2010.090955.
81. Frade, J. M., and López-Sánchez, N. (2017) Neuronal tetraploidy in Alzheimer and aging, *Aging (Albany NY)*, **9**, 2014-2015, doi: 10.18632/aging.101312.
82. Keinath, A. T., Mosser, C. A., and Brandon, M. P. (2022) The representation of context in mouse hippocampus is preserved despite neural drift, *Nat. Commun.*, **13**, 2415, doi: 10.1038/s41467-022-30198-7.
83. Rule, M. E., and O'Leary, T. (2022) Self-healing codes: How stable neural populations can track continually reconfiguring neural representations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2106692119, doi: 10.1073/pnas.2106692119.
84. Марков А., Наймарк Е. (2022) Эволюция человека, в 3 кн. *Кости, гены и культура*, Издательство АСТ, CORPUS, Москва, 624 с.
85. Угрюмов М. В. (2010) Болезнь Паркинсона: новые представления о патогенезе, диагностике и лечении. В кн. *Болезни движений: медицинские и социальные аспекты* (под ред. У. И. Гусева и А. Б. Гехт), АПКИППРО, Москва.
86. Epp, J. R., Silva, M. R., Köhler, S., Josselyn, S. A., and Frankland, P. W. (2016) Neurogenesis-mediated forgetting minimizes proactive interference, *Nat. Commun.*, **7**, 10838, doi: 10.1038/ncomms10838
87. Moroz, L. L., Nikitin, M. A., Poličar, P. G., Kohn, A. B., and Romanova, D. Y. (2021) Evolution of glutamatergic signaling and synapses, *Neuropharmacology*, **199**, 108740, doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108740.
88. Moroz, L. L. (2021) Multiple origins of neurons from secretory cells, *Front. Cell. Dev. Biol.*, **9**, 669087, doi: 10.3389/fcell.2021.669087.
89. Moroz, L. L., Romanova, D. Y., and Kohn, A. B. (2021) Neural versus alternative integrative systems: molecular insights into origins of neurotransmitters, *Philos. Trans. R. Soc. B*, **376**, 20190762, doi: 10.1098/rstb.2019.0762.
90. Sultan, F. A., and Sweatt, J. D. (2013) The role of the gadd45 family in the nervous system: a focus on neurodevelopment, neuronal injury, and cognitive neuroepigenetics, in *Gadd45. Stress Sensor Genes* (Liebermann, D A., Hoffman, B., eds) Springer, pp. 81-121, doi: 10.1007/978-1-4614-8289-5_6.
91. Crowe, S. L., Movsesyan, V. A., Jorgensen, T. J., and Kondratyev, A. (2006) Rapid phosphorylation of histone H2A.X following ionotropic glutamate receptor activation, *Eur. J. Neurosci.*, **23**, 2351-2361, doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04768.x.
92. Dyakonova, V. E. (2022) Origin and evolution of the nervous system: new data from comparative whole genome studies of multicellular animals, *Russ. J. Dev. Biol.*, **53**, 55-64, doi: 10.1134/S1062360422010088.
93. Liscovitch-Brauer, N., Alon, S., Porath, H. T., Elstein, B., Unger, R., Ziv, T., Admon, A., Levanon, E. Y., Rosenthal, J. J. C., and Eisenberg, E. (2017) Trade-off between transcriptome plasticity and genome evolution in cephalopods, *Cell*, **169**, 191-202.e11, doi: 10.1016/j.cell.2017.03.025.
94. Moldovan, M., Chervontseva, Z., Bazykin, G., and Gelfand, M. S. (2020) Adaptive evolution at mRNA editing sites in soft-bodied cephalopods, *PeerJ*, e10456, doi: 10.7717/peerj.10456.
95. Yablonoitch, A. L., Deng, P., Jacobson, D., and Li, J. B. (2017) The evolution and adaptation of RNA editing, *PLoS Genet.*, **13**, e1007064, doi: 10.1371/journal.pgen.1007064.
96. Garrett, S., and Rosenthal, J. J. C. (2012) RNA editing underlies temperature adaptation in K⁺ channels from polar octopuses, *Science*, **335**, 848-851, doi: 10.1126/science.1212795.

UNSTABLE DNA IN NEURONS: COUNTER OF THE LIFE SPAN AND A DRIVER OF EVOLUTION

Review

V. E. Dyakonova

*Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russia; e-mail: dyakonova.varvara@gmail.com*

The data on postmitotic instability of neuronal DNA, which have been reported in the last decade, are changing the theoretical landscape not only of neuroscience, but more broadly, of biology. A. M. Olovnikov

suggested in 2003 that it is the DNA of neurons that can be the “initial substrate of aging”. The current data significantly increases the likelihood of this hypothesis. How does neuronal DNA accumulate damage, in what regions of the genome, what factors contribute to its accumulation, and how can they be associated with aging and the life span? These questions will be considered in the review. In addition, instability of the neuronal DNA had apparently been accompanied by a search for various ways to reduce the biological costs of brain function in Metazoan evolution. Phenomena such as sleep, an increase in the number of neurons in the vertebrate brain evolution, adult neurogenesis, distributed neuronal activity, somatic polyploidy, RNA editing in cephalopods can be reconsidered in the light of “DNA plasticity-instability trade-off” in neurons. The topic is of obvious importance not only for fundamental neuroscience, but also for translational medicine.

Keywords: nervous system, neuronal DNA, postmitotic mutagenesis, DNA repair, lifespan, epigenetics, evolution of the nervous system

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ГЕРОПРОТЕКТОРЫ – ИЗ ЛАБОРАТОРИИ В КЛИНИКУ

Обзор

© 2023 А.А. Москалев

*Научно-исследовательский институт биологии старения ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
603950 Нижний Новгород, Россия; электронная почта: amoskalev@list.ru*

Поступила в редакцию 20.07.2023

После доработки 20.09.2023

Принята к публикации 20.09.2023

Геропротекторы – вещества, которые замедляют процесс старения и могут быть использованы в профилактике возраст-зависимых заболеваний. Геропротекторы могут улучшать функционирование различных систем организма и повышать их гомеостатические возможности. Нами была разработана система критериев геропротектора и предложена их классификация, основанная на механизмах действия на процессы старения. Необходимо, чтобы геропротекторы снижали смертность, улучшали биомаркеры старения человека, которые отражают доклинические стадии развития и риски возраст-зависимых заболеваний, имели минимум побочных эффектов и улучшали качество жизни. Кроме того, существуют подходы, основанные на комбинировании геропротекторов, нацеленных на разные мишени и механизмы старения, чтобы достичь наибольшей эффективности. В настоящее время проводятся многочисленные доклинические исследования для поиска новых молекулярных мишеней и разработки новых подходов к продлению здорового старения, однако количество клинических исследований невелико. Геропротекторы могут стать новым классом профилактических лекарств, так как предотвращают возникновение некоторых заболеваний или замедляют их развитие.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: геропротектор, старение, биомаркер, биологический возраст, критерии.

DOI: 10.31857/S0320972523110064, **EDN:** MLFOQD

ВВЕДЕНИЕ

Геропротекторы – вещества, воздействующие на механизмы старения и замедляющие его. Они могут служить целям профилактики и отсрочки возникновения возраст-зависимых заболеваний и продления активного периода жизни, стать частью современной профилактической и персонализированной медицины [1] и, прежде всего, нарождающейся медицины здорового долголетия [2].

Старение является одной из главных причин многих возрастных заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, рак, диабет и нейродегенеративные заболевания. Изучение геропротекторов может пролить свет на основные биологические процессы, которые лежат в основе старения. Это может помочь нам понять, какие молекулярные и клеточные изменения происходят в организме по мере его старения, и какие механизмы можно модулировать для достижения геропротекторного эффекта. Исследование геропротекторов

может помочь нам разработать стратегии для предотвращения или замедления возникновения этих заболеваний. Это имеет огромное значение для улучшения качества жизни людей и снижения бремени на здравоохранение. Однако необходимо отметить, что изучение геропротекторов является сложной задачей. Существуют различные факторы, которые могут влиять на результаты исследований, такие как различия в условиях проведения экспериментов, в генотипах и видах модельных организмов, проблемы короткоживущего контроля и невоспроизводимости данных. Это означает, что необходимо проводить дальнейшие исследования и разработки, чтобы установить эффективность и безопасность потенциальных геропротекторов для человека.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ГЕРОПРОТЕКТОРЫ

Нами была разработана система критериев геропротектора для того, чтобы наиболее

полным образом описывать желаемые свойства и признаки геропротектора и способствовать его внедрению в клиническую практику для профилактики старения. Мы выделили основные (обеспечивающие полезность и безопасность) и дополнительные (ускоряющие трансляцию в практику) критерии [3].

Основные критерии геропротектора. *Геропротектор должен продлевать жизнь.* О том, является ли вещество геропротектором или нет, судят по его способности увеличивать продолжительность жизни модельного организма в условиях эксперимента или уменьшать общую смертность у человека. Наша открытая онлайн база данных (geroprotectors.org), полученных из 2408 литературных источников, включает 259 соединений, которые продлевают жизнь по крайней мере в одной концентрации у одного из 13 модельных организмов от дрожжей до человека [4]. Недавно с нашим участием была создана база данных проекта DrugAge, в которой содержится более 1000 соединений, изученных на их влияние на продолжительность жизни [5].

Геропротектор должен обращать вспять процессы, связанные с возрастными заболеваниями. Клиническое исследование или применение геропротектора в современной медицинской практике невозможно без показаний, связанных с какими-либо сформировавшимися у индивида заболеваниями. Поэтому геропротектор должен помогать при определенных ассоциированных со старением заболеваниях, чтобы иметь шанс войти в практику. Тем не менее геропротекторы можно потенциально отнести к новому классу лекарств – профилактических, поскольку они не только лечат симптомы определенных болезней, а создают предпосылки для того, чтобы некоторые заболевания вовсе не возникали либо развивались медленнее и приходили как можно позже. Геронтолог Владимир Дильман называл старение самой универсальной болезнью [6]. По мнению Михаила Благодосклонного, возраст-зависимые заболевания (сахарный диабет 2-го типа, болезнь Альцгеймера, сердечно-сосудистые заболевания) являются симптомами старения, как дым – признаком огня [7]. Поэтому об эффективности геропротектора можно говорить, если он способен отсрочивать возникновение сразу нескольких возраст-зависимых заболеваний у человека (предотвращать мультиморбидность) и продлевать продолжительность здоровой жизни (возраст до наступления первого хронического заболевания).

Геропротектор должен положительно влиять на биомаркеры старения человека. Биомар-

керы старения – это молекулярные, клеточные, физиологические и психологические параметры организма, которые воспроизводимо количественно или качественно изменяются при старении [8]. Кандидат в геропротекторы должен переводить их в состояние, характерное для более молодого возраста. Критерий геропротектора, связанный с биомаркерами старения, приобретает особую важность в связи с трансляцией результатов в медицинскую практику. Исследования продолжительности жизни человека под действием кандидата в геропротекторы крайне длительные и затратные. Поэтому анализ продолжительности жизни можно проводить на животных, а эффекты на старение человека анализировать по широкому спектру изменений биомаркеров на фоне геропротекторной терапии. В настоящее время все чаще предпринимаются попытки использовать методы оценки биологического возраста в качестве комплексного биомаркера старения человека в рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследованиях. Например, показано изменение толщины комплекса интима–медиа (КИМ) сонной артерии и жесткости артериальной стенки после курса приема препарата комплекса терпенов [9].

Геропротектор не может иметь выраженных побочных эффектов и должен улучшать качество жизни. Поскольку некоторые геропротекторы могут оказывать профилактическое действие лишь при достаточно высоких концентрациях, необходимо, чтобы токсичная и эффективная с точки зрения замедления старения концентрации максимально различались. Некоторые вещества, в определенных дозах продлевающие жизнь модельных животных, имеют побочные эффекты у человека. Достижение геропротекторного эффекта предполагает длительный прием препарата в течение многих лет. Используя данные препараты, придется идти на компромисс между ожидаемыми и побочными эффектами. Поэтому желательно, чтобы количество и выраженность побочных эффектов у кандидатов в геропротекторы была минимальной. Эффективность замедления старения под действием геропротекторов, вероятнее всего, станет заметна лишь через много лет их систематического применения. Поэтому важно, чтобы они улучшали качество жизни человека с самого начала их использования – способствовали устранению проблем с пищеварением, благоприятно влияли на сон, противодействовали развитию депрессии или ухудшению памяти.

Мы применили критерии геропротектора к широкому спектру потенциальных геропротек-

текторов. Критериям геропротектора соответствуют некоторые соединения среди природных терпеноидов [10] и веществ, оказывающих протективное действие на геном [11].

Профессор В.Н. Анисимов классифицировал вещества, которые могут продлить жизнь, на три группы [12]. Первая группа – это геропротекторы, которые одинаково полезны для всех представителей популяции, т.к. могут задержать начало процесса старения. Вторая группа – геропротекторы, которые снижают смертность людей, доживающих до старческого возраста. Они позволяют повысить максимальную продолжительность жизни, замедляя процесс старения популяции. Третья группа – это геропротекторы, которые увеличивают шансы выживания людей, живущих не очень долго, без изменения максимальной продолжительности жизни популяции. Это значит, что они ускоряют процесс старения, но при этом повышают вероятность дожить до старческого возраста.

Старение можно определить как постепенное сокращение возможностей систем организма поддерживать постоянство внутренней среды, ведущее к началу ассоциированных со старением заболеваний и смерти. Поэтому главной стратегией по противодействию старению и износу организма может стать поддержание гомеостатических возможностей на всех уровнях организации живой системы.

Классификация геропротекторов по способности обеспечивать гомеостаз организма [13].
Корректировка последствий нарушения гомеостаза. С возрастом нарушение гомеостаза проявляется в отклонении от здорового уровня таких жизненно важных параметров, как кислотно-щелочной баланс крови, артериальное давление, уровень глюкозы и холестерина в крови. Поэтому препараты, предотвращающие развитие подобных ассоциированных со старением состояний, могут рассматриваться как геропротекторы. К геропротекторам, корректирующим последствия нарушения гомеостаза, можно отнести противодиабетические, антиаритмические, гипополипидемические, сосудистые, антигипертензивные препараты. Действительно, такие препараты, как антидиабетические бигуанидины (метформин) и ингибиторы SGLT2I, способны снизить сердечно-сосудистую смертность, выходя за пределы очерченных для них показаний вторичной профилактики [14, 15]. Прием бисфосфонатов (ингибиторы резорбции кости) также снижает общую смертность пациентов [16]. Выявлено стабильное снижение смертности на фоне приема статинов в возрасте 65 лет и старше [17].

Повышение возможности гомеостатических систем организма. На клеточном уровне ключевую гомеостатирующую роль играют белки стресс-ответа. Недостаток нутриентов, гипоксия, повреждение ДНК, нарушение протеостаза воспринимаются клеткой как стрессы. Активация систем стрессоустойчивости может не только нивелировать повреждения, но и перевести систему на более высокий уровень защиты от новых спонтанных ошибок и повреждений [18]. Индукция механизмов стрессоустойчивости может осуществляться факторами, вызывающими умеренный стресс, не сопровождающийся значительными повреждениями, но способный активизировать защиту. Данное явление получило название «гормезис» [19], а вещества, его вызывающие, были названы горметинами [20].

Нейтрализация агентов во внешней и внутренней среде, вызывающих нарушение гомеостаза. Это широкий круг соединений, например хелаторы переходных металлов Cu и Fe, участвующих в реакциях Фентона, Габера–Вейса и Майяра; перехватчики активных форм кислорода; вещества, разрывающие перекрестные сшивки; препараты, препятствующие агрегации белков (антиамилоидные вещества).

Подавление избыточных гомеостатических реакций, ведущих к еще большей потере гомеостаза. Гиперфункция некоторых гомеостатических реакций в ответ на стресс может иметь даже большее повреждающее действие, чем исходное повреждение. Согласно гипотезе героконверсии М.В. Благосклонного, после остановки клеточного цикла стареющие клетки продолжают свой рост. «Героконверсия» приводит к гиперсекреции, гипертрофии и провоспалительному клеточному фенотипу, который зависит от активности фермента киназы mTOR [21]. К подобного рода избыточным гомеостатическим реакциям можно отнести и инфламмейджинг, постулированный Franceschi [22]. К ингибиторам гиперфункции также стоит отнести препараты, нацеленные на специфичные мишени, гиперактивированные при старении – mTORC1, NF-κB, PARP1, iNOX, COX2, p38, S6K, TGF-β, AT1, IGFR, HIF-1.

В настоящее время количество исследованных мишеней для потенциальных геропротекторов довольно ограничено, а их эффективность в продлении жизни оставляет желать лучшего. Один из возможных подходов для увеличения перечня эффективных мишеней – таргетирование широкого спектра молекулярных, клеточных и системных процессов, ассоциированных со старением и возраст-

Таблица 1. Механизмы действия потенциальных геропротекторов [23]

Механизм	Группа геропротекторов	Примеры
Предотвращение свободнорадикального окисления	поглотители свободных радикалов или антиоксиданты; хелаторы переходных металлов; жирные кислоты, устойчивые к перекисному окислению липидов	витамин С, А, Е, дейтерированные полиненасыщенные жирные кислоты
Поддержание митохондриальной функции	митогорметины и ингибиторы митохондриальной электрон-транспортной цепи; индукторы митофагии; активаторы PPAR γ /PGC-1 α и митопротеролиферации; предшественники NAD ⁺	уролитин А, NMN, NR, NA
Поддержание протеостаза	агенты, препятствующие гликированию, и ингибиторы перекрестных сшивок конечных продуктов гликирования (КПП); антагонисты рецепторов КПП RAGE; антиамилоидные соединения; стимуляторы обмена внеклеточного матрикса; индукторы аутофагии; активаторы протеасом; частичные ингибиторы трансляции	спермидин
Сенолитики/сеностатики	вещества, способствующие избирательной элиминации сенесцентных клеток или замедляющие их появление	кверцетин + дазатиниб
Горметины	вещества, вызывающие умеренные повреждения и стимулирующие активизацию защитных механизмов стрессоустойчивости	сульфорафан, куркумин
Супрессоры нестабильности генома	антимутагенные соединения; стабилизаторы теломер; ингибиторы ретротранспозиций	ингибиторы обратной транскриптазы
Эпигенетические регуляторы	ингибиторы HDACs, HATs; активаторы SIRT6	бутират, бета-гидроксibuтират, ресвератрол
Ингибиторы связанных со старением сигнальных путей	ингибиторы mTORC1; ингибиторы PI3K; ингибиторы Ras; ингибиторы Мус; ингибиторы АТ1; активаторы AMPK; активаторы Клото	рапамицин, торин 2, вортманнин, LY294002
Противовоспалительные препараты	ингибиторы NF- κ B; активаторы NRF2	ибупрофен, аспирин
Оптимизаторы микробиоты кишечника	пребиотики, метабиотики и энтеросорбенты	пищевые волокна, лигнаны
Антифибротические агенты	ингибиторы сигнальных путей, связанных с фиброзом	ингибиторы TGF- β → ALK5 → p-Smad 2,3
Нейротрофические факторы	играют роль в развитии и сохранении структур как центральной, так и периферической нервной системы	миметики BDNF
Факторы, препятствующие нарушению барьерной функции	ингибиторы матричных металлопротеиназ, активаторы синтеза белков плотных контактов	ингибиторы MMP9
Иммуномодуляторы	факторы, способствующие регенерации тимуса и сохранения пула наивных Т-клеток	регуляторы JAK → STAT пути

зависимыми заболеваниями (табл. 1). Однако необходимо отметить, что одно и то же соединение может оказывать свое действие по нескольким путям, и каждый геропротектор не ограничивается одним подклассом.

Для увеличения количества потенциальных эффективных мишеней геропротекции было предложено использовать компьютерные алгоритмы поиска, опирающиеся на сравнение транскриптомных сигнатур старых и молодых клеток [24]. Реализация подобного подхода позволила установить потенциальные геропротекторные свойства у некоторых одобренных FDA лекарств, например пиоглитазона (агониста PPAR γ) [25]. С помощью специальной компьютерной программы, использующей искусственный интеллект, PandaOmics, удалось найти новые цели для создания лекарств, которые могут иметь полезные свойства для борьбы со старением и связанными с ним 14 заболеваниями. В частности, были обнаружены несколько генов-мишеней, которые играют важную роль в процессах воспаления и жесткости внеклеточного матрикса в тканях организма. К таким генам относятся *CASP3*, *VEGFA* и *MMP9* [26].

Еще одним способом повысить эффективность геропротекции является комбинирование в одной интервенции нескольких мишеней, связанных со старением. Сочетание рапамицина и вортманнина увеличило продолжительность жизни дрозофилы до 23,4% [27]. Препараты, влияющие на пути TGF- β и IGF-1, синергетически продлевают жизнь *Caenorhabditis elegans* до 2 раз [28]. Одновременное ингибирование TGF- β и лечение окситоцином усиливают нейрогенез, снижают нейровоспаление, улучшают когнитивные функции, омолаживают печень и мышцы и уменьшают количество р16-экспрессирую-

щих стареющих клеток у старых мышей [29]. Одногодичное лечение пациентов с помощью рекомбинантного гормона роста человека с дегидроэпиандростероном (DHEA) и с метформином меняет средний эпигенетический возраст приблизительно на 1,5 года [30].

Необходимо также рассмотреть проблемы, связанные с применением геропротекторов [31]. Большинство изученных на моделях геропротекторов увеличивают продолжительность жизни незначительно или только у одного пола животных. Старение не признано в качестве заболевания или патологического состояния, что обуславливает небольшое количество клинических испытаний геропротекторных свойств фармпрепаратов, фактически ограничивая их изучением природных соединений в составе биологически активных добавок. Отсутствие общепринятого набора биомаркеров старения человека также затрудняет клинические исследования потенциальных геропротекторов.

Имеющиеся клинические данные довольно ограничены и свидетельствуют лишь о пользе потенциальных геропротекторов в отношении суррогатных биомаркеров здоровья и в основном у пациентов с возраст-зависимыми заболеваниями, а не у здоровых людей (табл. 2).

Поскольку целью применения геропротектора является увеличение здорового периода жизни, в перспективе лечение следует начинать до того, как появятся какие-либо хронические заболевания, тем самым отсрочив начало первого хронического заболевания, связанного с возрастом. В настоящее время мы можем говорить лишь о геросупрессорах, так как они помогают предотвратить или замедлить некоторые проявления старения, но не знаем клинически доказанных примеров, как обратить его вспять.

Таблица 2. Клинические исследования потенциальных геропротекторов

Группа	Показание	Ссылка
Ингибитор mTOR, RTB101	иммунитет к вирусным инфекциям у пожилых людей	[32]
Модулятор AMPK, метформин	сердечно-сосудистые заболевания	[33]
Активатор Nrf2-пути, сульфорафан	облегчение симптомов легкой и умеренной депрессии у пациентов с кардиохирургическими вмешательствами в анамнезе	[34]
Восстановление NAD ⁺	добавка предшественников NAD ⁺ : никотинамид, никотинамид рибозид, никотинамид мононуклеотид оказывают положительный эффект на биомаркеры липидного профиля у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и дислипидемией	[35]
Сенолитики	дазатиниб + кверцетин снижают уровень воспаления в жировой ткани и улучшают системную метаболическую функцию в пожилом возрасте	[36]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на множество известных механизмов профилактики старения, многие классы геропротекторов мало изучены даже на доклиническом уровне. Сделать какие-либо далеко идущие выводы сложно, поскольку недостаточно данных для выполнения необходимых критериев для геропротекторов. Побочные эффекты могут быть более значительными, чем потенциальная выгода в долгосрочной перспективе. Некоторые потенциальные геропротекторы дали многообещающие результаты в исследованиях на лабораторных моделях, но их эффективность должна быть подтверждена в плацебо-контролируемых, слепых, многоцентровых клинических исследованиях с использованием биомаркеров старения человека и данных о смертности.

Целью применения геропротектора является увеличение продолжительности здоровой жизни, и лечение следует начинать до появления хронических заболеваний, чтобы отложить возникновение первого возрастного хронического заболевания. Однако получение разрешения на такое исследование без показаний является сложным, особенно из-за серьезных побочных эффектов некоторых препаратов с доклинически доказанной геропротекторной активностью, например, таких

как ЭДТА и рапамицин. Более перспективно, на наш взгляд, исследовать клинически биологически активные добавки, используя в качестве конечных точек биомаркеры старения и методы оценки биологического возраста.

В настоящее время мы можем говорить не о геропротекторах, а о геросупрессорах, так как мы можем замедлить, но не предотвратить некоторые проявления старения. Однако в будущем возможно появление новых методов борьбы со старением, и мы надеемся на развитие медицины здорового долголетия в нашей стране, подобно недавно созданным клиническим центрам в Сингапуре, Гонконге, Израиле и США.

Благодарности. Автор благодарит сотрудников и коллег-исследователей, принимавших участие в совместных исследованиях геропротекторов, процитированных в настоящем обзоре литературы.

Финансирование. Исследование профинансировано из средств программы «Приоритет 2030» ННГУ «Здоровое поколение».

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных автором исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фоменко А. Н., Прошкина Е. Н., Фединцев А. Ю., Цветков В. О., Шапошников М. В., Москалев А. А. (2016) *Потенциальные геропротекторы*, Европейский дом, Санкт-Петербург.
2. Bischof, E., Scheibye-Knudsen, M., Siow, R., and Moskalev, A. (2021) Longevity medicine: upskilling the physicians of tomorrow, *Lancet Healthy Longev.*, **2**, e187-e188, doi: 10.1016/S2666-7568(21)00024-6.
3. Moskalev, A., Chernyagina, E., Tsvetkov, V., Fedintsev, A., Shaposhnikov, M., Krut'ko, V., Zhavoronkov, A., and Kennedy, B. K. (2016) Developing criteria for evaluation of geroprotectors as a key stage toward translation to the clinic, *Aging Cell*, **15**, 407-415, doi: 10.1111/ace1.12463.
4. Moskalev, A., Chernyagina, E., de Magalhaes, J. P., Barardo, D., Thoppil, H., Shaposhnikov, M., Budovsky, A., Fraifeld, V. E., Garazha, A., Tsvetkov, V., Bronovitsky, E., Bogomolov, V., Scerbacov, A., Kuryan, O., Gurinovich, R., Jellen, L. C., Kennedy, B., Mamoshina, P., Dobrovolskaya, E., Aliper, A., et al. (2015) Geroprotectors.org: a new, structured and curated database of current therapeutic interventions in aging and age-related disease, *Aging (Albany NY)*, **7**, 616-628, doi: 10.18632/aging.100799.
5. Barardo, D., Thornton, D., Thoppil, H., Walsh, M., Sharifi, S., Ferreira, S., Anzic, A., Fernandes, M., Monteiro, P., Grum, T., Cordeiro, R., De-Souza, E. A., Budovsky, A., Araujo, N., Gruber, J., Petrascheck, M., Fraifeld, V. E., Zhavoronkov, A., Moskalev, A., and de Magalhaes, J. P. (2017) The DrugAge database of aging-related drugs, *Aging Cell*, **16**, 594-597, doi: 10.1111/ace1.12585.
6. Дильман В. М. (1986) *Большие биологические часы. Введение в интегральную медицину*, Знание, Москва.
7. Blagosklonny, M. V. (2009) TOR-driven aging: speeding car without brakes, *Cell Cycle*, **8**, 4055-4059, doi: 10.4161/cc.8.24.10310.
8. Moskalev, A. (2020) The challenges of estimating biological age, *Elife*, **9**, e54969, doi: 10.7554/eLife.54969.
9. Maganova, F., Voevoda, M., Popov, V., and Moskalev, A. (2023) A prospective randomized comparative placebo-controlled double-blind study in two groups to assess the effect of the use of biologically

- active additives with Siberian fir terpenes for the biological age of a person, *Front. Pharmacol.*, **14**, 1150504, doi: 10.3389/fphar.2023.1150504.
10. Proshkina, E., Plyusnin, S., Babak, T., Lashmanova, E., Maganova, F., Koval, L., Platonova, E., Shaposhnikov, M., and Moskalev, A. (2020) Terpenoids as potential geroprotectors, *Antioxidants (Basel)*, **9**, 529, doi: 10.3390/antiox9060529.
 11. Proshkina, E., Shaposhnikov, M., and Moskalev, A. (2020) Genome-protecting compounds as potential geroprotectors, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 4484, doi: 10.3390/ijms21124484.
 12. Anisimov, V. N. (2001) Life span extension and cancer risk: myths and reality, *Exp. Gerontol.*, **36**, 1101-1136, doi: 10.1016/s0531-5565(01)00114-0.
 13. Moskalev, A., Chernyagina, E., Kudryavtseva, A., and Shaposhnikov, M. (2017) Geroprotectors: a unified concept and screening approaches, *Aging Dis.*, **8**, 354-363, doi: 10.14336/AD.2016.1022.
 14. Araldi, E., Jutzeler, C. R., and Ristow, M. (2023) Effects of antidiabetic drugs on mortality risks in individuals with type 2 diabetes: A prospective cohort study of UK Biobank participants, *medRxiv*, doi: 10.1101/2023.05.19.23290214.
 15. Roussel, R., Travert, F., Pasquet, B., Wilson, P. W., Smith, S. C., Jr., Goto, S., Ravnaud, P., Marre, M., Porath, A., Bhatt, D. L., Steg, P. G., and Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry, I. (2010) Metformin use and mortality among patients with diabetes and atherothrombosis, *Arch. Intern. Med.*, **170**, 1892-1899, doi: 10.1001/archinternmed.2010.409.
 16. Bergman, J., Nordstrom, A., Hommel, A., Kivipelto, M., and Nordstrom, P. (2019) Bisphosphonates and mortality: confounding in observational studies? *Osteoporos. Int.*, **30**, 1973-1982, doi: 10.1007/s00198-019-05097-1.
 17. Gitsels, L. A., Bakbergenuly, I., Steel, N., and Kulinskaya, E. (2021) Do statins reduce mortality in older people? Findings from a longitudinal study using primary care records, *Fam. Med. Community Health*, **9**, e000780, doi: 10.1136/fmch-2020-000780.
 18. Moskalev, A. A., Aliper, A. M., Smit-McBride, Z., Buzdin, A., and Zhavoronkov, A. (2014) Genetics and epigenetics of aging and longevity, *Cell Cycle*, **13**, 1063-1077, doi: 10.4161/cc.28433.
 19. Calabrese, E. J. (2013) Hormesis: toxicological foundations and role in aging research, *Exp. Gerontol.*, **48**, 99-102, doi: 10.1016/j.exger.2012.02.004.
 20. Rattan, S. I. (2012) Rationale and methods of discovering hormetins as drugs for healthy ageing, *Expert Opin. Drug Discov.*, **7**, 439-448, doi: 10.1517/17460441.2012.677430.
 21. Blagosklonny, M. V. (2014) Geroconversion: irreversible step to cellular senescence, *Cell Cycle*, **13**, 3628-3635, doi: 10.4161/15384101.2014.985507.
 22. Franceschi, C. (2007) Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured? *Nutr. Rev.*, **65**, S173-S176, doi: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00358.x.
 23. Moskalev, A., Guvatova, Z., Lopes, I. A., Beckett, C. W., Kennedy, B. K., De Magalhaes, J. P., and Makarov, A. A. (2022) Targeting aging mechanisms: pharmacological perspectives, *Trends Endocrinol. Metab.*, **33**, 266-280, doi: 10.1016/j.tem.2022.01.007.
 24. Zhavoronkov, A., Buzdin, A. A., Garazha, A. V., Borisov, N. M., and Moskalev, A. A. (2014) Signaling pathway cloud regulation for in silico screening and ranking of the potential geroprotective drugs, *Front. Genet.*, **5**, 49, doi: 10.3389/fgene.2014.00049.
 25. Yang, J., Peng, S., Zhang, B., Houten, S., Schadt, E., Zhu, J., Suh, Y., and Tu, Z. (2020) Human geroprotector discovery by targeting the converging subnetworks of aging and age-related diseases, *Geroscience*, **42**, 353-372, doi: 10.1007/s11357-019-00106-x.
 26. Pun, F. W., Leung, G. H. D., Leung, H. W., Liu, B. H. M., Long, X., Ozerov, I. V., Wang, J., Ren, F., Aliper, A., Izumchenko, E., Moskalev, A., de Magalhaes, J. P., and Zhavoronkov, A. (2022) Hallmarks of aging-based dual-purpose disease and age-associated targets predicted using PandaOmics AI-powered discovery engine, *Aging (Albany NY)*, **14**, 2475-2506, doi: 10.18632/aging.203960.
 27. Danilov, A., Shaposhnikov, M., Plyusnina, E., Kogan, V., Fedichev, P., and Moskalev, A. (2013) Selective anticancer agents suppress aging in *Drosophila*, *Oncotarget*, **4**, 1507-1526, doi: 10.18632/oncotarget.1272.
 28. Admasu, T. D., Chaithanya Batchu, K., Barardo, D., Ng, L. F., Lam, V. Y. M., Xiao, L., Cazenave-Gassiot, A., Wenk, M. R., Tolwinski, N. S., and Gruber, J. (2018) Drug synergy slows aging and improves healthspan through IGF and SREBP lipid signaling, *Dev. Cell*, **47**, 67-79.e65, doi: 10.1016/j.devcel.2018.09.001.
 29. Mehdipour, M., Etienne, J., Chen, C. C., Gathwala, R., Rehman, M., Kato, C., Liu, C., Liu, Y., Zuo, Y., Conboy, M. J., and Conboy, I. M. (2019) Rejuvenation of brain, liver and muscle by simultaneous pharmacological modulation of two signaling determinants, that change in opposite directions with age, *Aging (Albany NY)*, **11**, 5628-5645, doi: 10.18632/aging.102148.
 30. Fahy, G. M., Brooke, R. T., Watson, J. P., Good, Z., Vasanaawala, S. S., Maecker, H., Leipold, M. D., Lin, D. T. S., Kobor, M. S., and Horvath, S. (2019) Reversal of epigenetic aging and immunosenescent trends in humans, *Aging Cell*, **18**, e13028, doi: 10.1111/accel.13028.
 31. Moskalev, A. (2020) Is anti-ageing drug discovery becoming a reality, *Expert Opin. Drug Discov.*, **15**, 135-138, doi: 10.1080/17460441.2020.1702965.
 32. Mannick, J. B., Teo, G., Bernardo, P., Quinn, D., Russell, K., Klickstein, L., Marshall, W., and Shergill, S. (2021) Targeting the biology of ageing with mTOR inhibitors to improve immune function in older

- adults: phase 2b and phase 3 randomised trials, *Lancet Healthy Longev.*, **2**, e250-e262, doi: 10.1016/S2666-7568(21)00062-3.
33. Dihoum, A., Rena, G., Pearson, E. R., Lang, C. C., and Mordi, I. R. (2023) Metformin: evidence from preclinical and clinical studies for potential novel applications in cardiovascular disease, *Expert Opin. Invest. Drugs*, **32**, 291-299, doi: 10.1080/13543784.2023.2196010.
34. Ghazizadeh-Hashemi, F., Bagheri, S., Ashraf-Ganjouei, A., Moradi, K., Shahmansouri, N., Mehroopoya, M., Noorbala, A. A., and Akhondzadeh, S. (2021) Efficacy and safety of sulforaphane for treatment of mild to moderate depression in patients with history of cardiac interventions: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, *Psychiatry Clin. Neurosci.*, **75**, 250-255, doi: 10.1111/pcn.13276.
35. Zhong, O., Wang, J., Tan, Y., Lei, X., and Tang, Z. (2022) Effects of NAD⁺ precursor supplementation on glucose and lipid metabolism in humans: a meta-analysis, *Nutr. Metab. (Lond)*, **19**, 20, doi: 10.1186/s12986-022-00653-9.
36. Islam, M. T., Tuday, E., Allen, S., Kim, J., Trott, D. W., Holland, W. L., Donato, A. J., and Lesniewski, L. A. (2023) Senolytic drugs, dasatinib and quercetin, attenuate adipose tissue inflammation, and ameliorate metabolic function in old age, *Aging Cell*, **22**, e13767, doi: 10.1111/acel.13767.

POTENTIAL GEROPROTECTORS – FROM THE BANCH TO THE CLINIC

Review

A. A Moskalev

*Institute of biogerontology of Lobachevsky University,
603950 Nizhny Novgorod, Russia; e-mail: amoskalev@list.ru*

Geroprotectors are substances that slow down the aging process and can be used in the prevention of age-related diseases. Geroprotectors can improve the functioning of various organ systems and enhance their homeostatic capabilities. We have developed a system of criteria for geroprotectors and proposed their classification based on the mechanisms of action on the aging processes. It is necessary for geroprotectors to reduce mortality, improve human aging biomarkers, have minimal side effects, and enhance quality of life. Additionally, there are approaches based on combining geroprotectors targeted at different targets and mechanisms of aging to achieve maximum effectiveness. Currently, numerous preclinical studies are being conducted to identify new molecular targets and develop new approaches to extend healthy aging, although the number of clinical trials is limited. Geroprotectors have the potential to become a new class of preventive medicines as they prevent the onset of certain diseases or slow down their progression.

Keywords: geroprotector, aging, biomarker, biological age, criteria

РЕТРОТРАНСПОЗОНЫ И ТЕЛОМЕРЫ

Обзор

© 2023 А.И. Калмыкова*, О.А. Соколова

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,
119334 Москва, Россия; электронная почта: allakalm@idbras.ru

Поступила в редакцию 19.06.2023

После доработки 24.07.2023

Принята к публикации 12.08.2023

Мобильные элементы (МЭ) составляют десятки процентов генома эукариот, являясь основным источником нестабильности генома. Системы клеточной защиты подавляют экспансию МЭ на всех стадиях их жизненного цикла. Белки подсемейств Piwi и Piwi-взаимодействующие короткие РНК (piРНК) являются ключевыми элементами защитной системы, которая контролирует активность МЭ в гонадах многоклеточных животных, предотвращая наследуемые транспозиции и дефекты развития. В данном обзоре мы обсуждаем разнообразие регуляторных механизмов, с помощью которых короткие РНК подавляют активность МЭ. Тем не менее активные МЭ присутствуют в геномах, что свидетельствует об ограниченных возможностях этих механизмов защиты. Появляется всё больше данных, которые свидетельствуют о том, что повышенная активность МЭ совпадает в развитии с удлинением теломер и эпигенетическим перепрограммированием генома у разных видов. У плодовой мухи *Drosophila* теломеры состоят из ретротранспозонов, а защитный механизм с участием piРНК также необходим для поддержания теломер и контроля их длины. Следовательно, работа защитных механизмов в данном случае должна быть тонко сбалансирована, чтобы не только подавлять активность МЭ, но и поддерживать оптимальную длину и стабильность теломер. Структурно-функциональная связь гомеостаза теломер с ретротранспозоном LINE1 у человека указывает на тесную взаимосвязь эгоистичных МЭ с жизненно важными функциями генома. Такая связь, по-видимому, является наследием ретротранспозонного происхождения теломер и позволяет сохранять активные МЭ в геноме. Своеобразной платой за такую «услугу» является поддержание теломер и выполнение других жизненно важных функций, приобретённых МЭ в процессе их одомашнивания в геноме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ретротранспозоны, теломеры, теломераза, полиплоидия, Piwi, piРНК, зародышевая линия, хроматин, LINE1, *Drosophila*.

DOI: 10.31857/S0320972523110076, **EDN:** MLIDFQ

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему моменту накоплен достаточный массив данных, который указывает на то, что регуляция активности мобильных элементов (МЭ) и важные клеточные процессы тесно связаны, и именно эта связь обеспечивает выживание в геноме МЭ, несмотря на мощные системы подавления их активности. Каков механизм этого глобального геномного компромисса? МЭ служат богатым источником эволюционных преобразований в геноме, предоставляя энхансеры, промоторы, экзоны, сайты сплайсинга, архитектурные элемен-

ты и участвуя в ключевых механизмах развития и иммунного ответа [1–4]. МЭ вносят вклад в формирование таких важных структур хромосом, как центромеры и локус генов рибосомной РНК [5–8]. В данном обзоре мы рассмотрим один из ярких примеров вклада ретротранспозонов в эволюцию генома, связанных с происхождением и поддержанием теломер.

Теломеры – концевые участки линейных хромосом – находятся в центре внимания множества исследователей уже больше 50 лет, с 1971 г., когда было опубликовано блестящее предсказание Алексея Матвеевича Оловникова

Принятые сокращения: МЭ – мобильные элементы; piРНК – Piwi-interacting RNA, Piwi-взаимодействующие короткие РНК; siРНК – Small interfering RNA, малые интерферирующие РНК.

* Адресат для корреспонденции.

об «Ахиллесовой пяте двойной спирали» — о недорепликации концов хромосом [9, 10]. Им же было предположено существование специализированной ДНК-полимеразы, которая обеспечивает удлинение теломерной ДНК. Такой фермент, названный теломеразой, был обнаружен гораздо позже и оказался обратной транскриптазой, находящейся в комплексе с РНК-матрицей [11]. Предполагается, что концы первичных линейных хромосом могли защищаться и поддерживаться за счёт присоединений ретроэлементов, а теломеразный рибонуклеопротеиновый комплекс можно рассматривать как возникший в процессе эволюции специализированный ретроэлемент, присоединяющийся на концы хромосом [12]. Действительно, филогенетический анализ обратной транскриптазы выявил, что теломераза и ретротранспозоны произошли от общего предкового ретроэлемента [13–15]. Хотя у большинства организмов теломеры поддерживаются теломеразой, это не единственный способ удлинения теломер. Среди современных видов животных есть такие, теломеры которых поддерживаются за счёт присоединений ретротранспозонов — это многие виды насекомых, и в особенности семейство *Drosophilidae*. Считается, что у *Drosophila* теломераза была утеряна, а в поддержании теломер участвуют специализированные теломерные ретротранспозоны. У шелкопряда смешанный тип теломер, в поддержании которых участвует низкоактивная теломераза и специализированные теломерные ретроэлементы. У многих видов животных, использующих теломеразу, включая человека, ретроэлементы также присоединяются к теломере в определённых условиях [16, 17], используя двунитевой обрыв на конце хромосомы как удобную мишень для ретротранспозиций. В то же время у комаров не обнаружено ни теломеразы, ни теломерных ретроэлементов, а удлинение теломер, по-видимому, происходит за счёт рекомбинации коротких повторов сателлитной природы, обнаруженных в теломерах [18, 19].

Теломеры, поддерживающиеся за счёт мобильных элементов, хоть и отличаются от теломер, которые поддерживаются с помощью теломеразы, тем не менее напоминают нам о ретротранспозонном прошлом теломер. Исследование регуляции теломер дрозофилы, состоящих из ретротранспозонов, выявляет удивительное сходство, если не идентичность, механизмов поддержания теломер и контроля активности МЭ. Это сходство приводит нас к выводу о существовании тесной функциональной связи между ретротранспозонами и тело-

мерами в геноме, которая, как показывают недавние исследования, присутствует не только у дрозофилы, но и у млекопитающих.

ПОЧЕМУ ТЕЛОМЕРАЗА УТРАЧЕНА У МНОГИХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ И ДРОЗОФИЛЫ?

Известно много видов растений и животных, у которых в процессе эволюции теломераза была утрачена, а для удлинения теломер используются другие механизмы. У двукрылых ген теломеразы был потерян около 270 млн лет назад [20]. Однако, несмотря на отсутствие теломеразы, представители отряда *Diptera* являются одними из наиболее многочисленных и процветающих видов животных. Ген, кодирующий теломеразу, не был найден в геномах видов *Drosophila*, а удлинение их теломер происходит за счёт транспозиций мобильных элементов. Наиболее изученными являются теломерные ретроэлементы *Drosophila melanogaster*. Они представлены тремя семействами ретротранспозонов типа LINE (Long Interspersed Nuclear Elements) — *HeT-A*, *TART* и *TAHRE* [21, 22]. В то же время у бабочки *Bombyx mori* (тутового шелкопряда) присутствует низкоактивная теломераза, а теломерная ниша активно заполняется специализированными теломерными ретротранспозонами SART и TRAS [23]. С чем связана такая обратная эволюция и отказ от теломеразы, остаётся загадкой.

Алексей Матвеевич Оловников особенно живо интересовался исключениями из правил, ища объяснение тому или иному загадочному явлению природы. В данной главе хотелось бы привести его оригинальные рассуждения по поводу утраты теломеразы у дрозофилы, которые он высказывал в личной переписке: «Известно, что хромосомы личиночных слюнных желез *D. melanogaster* подвергаются многим раундам эндорепликации. Вдобавок имеет место соматический синапсис гомологичных хромосом. Однако строго точная боковая конъюгация сестринских хроматид, плотно соединённых между собой по длине, с неизбежностью должна создавать в теломерной зоне чисто механическое препятствие для формирования теломеразной теломеры. Такая теломера должна иметь теломерную петлю — трёхмерную структуру. Сотни конъюгированных хроматидных концов, плотно объединённых в едином политенном пучке хроматид, создавали бы непреодолимые стерические препятствия друг для друга при формировании своего 3D теломерного комплекса. Поэтому дрозофилы,

применив политенизацию, были вынуждены отказаться от услуг теломеразы. В отличие от указанной ситуации, процесс формирования G-квадруплекса, защищающего конец ретро-транспозона на конце каждой хроматиды, не требует формирования теломерной петли и благодаря этому легко совместим с боковой конъюгацией хроматид. Можно предположить, что именно политенизация могла послужить ключевой причиной выбора у дрозофилы альтернативного способа защиты своих теломер. Сама же политенизация хромосом в клетках слюнных желез у личинок дрозофил, как известно, необходима, в частности, для продукции большого количества клейкого вещества перед окукливанием. Плотная укладка хроматид, по-видимому, не используется теми организмами, которые нуждаются в повышении копияности генов, но обладают при этом теломеразными теломерами. Например, у инфузорий, имеющих полиплоидный макронуклеус и теломеразу, хромосомы фрагментированы. Допустима также следующая альтернатива: если теломеры, в отличие от остальной части политенизированных хроматид, не конъюгированы (значит, свободны от упомянутого стерического препятствия), то это расширяет возможности применения теломеразного способа защиты теломер. Поэтому могут существовать виды, у которых на той или иной стадии развития используются политенные хромосомы и теломераза-подобные белки, но концы хромосом не спарены. Такие неспаренные концы хромосом наблюдались, например, в специализированных политенных клетках и на концах мейотических пахитенных хромосом у бобового растения *Vigna unguiculata*, использующего теломеразу [24, 25]. Тенденция к расслаиванию концов хромосом на олиготеновые пучки наблюдается в политенных хромосомах некоторых других видов [26]» (из письма от А.М. Оловникова А.И. Калмыковой, сентябрь 2017 г.).

Действительно, недавно появилось сообщение, что теломерные ретро-транспозоны не только у представителей рода *Drosophila*, но и у других видов имеют тенденцию к формированию G-квадруплексов – вторичных структур, образуемых последовательностями ДНК, обогащёнными гуаниновыми остатками [27]. Такие структуры могут защищать концы линейных хромосом при отсутствии теломерной петли, характерной для теломер, поддерживаемых с помощью теломеразы. Существование альтернативных способов поддержания теломер даёт уникальную возможность исследовать возникновение функциональных аналогий в

природе. Изучение теломер дрозофилы дало нам возможность посмотреть с новой точки зрения на защитные механизмы регуляции МЭ и их участие в функционировании теломер. Наиболее ярким примером является участие механизма РНК-интерференции и коротких РНК типа piРНК (Piwi-interacting RNA, Piwi-взаимодействующие короткие РНК) в контроле длины теломер дрозофилы в зародышевой линии.

ПУТЬ С УЧАСТИЕМ piРНК: ИСТОЧНИКИ И МИШЕНИ piРНК

МЭ обнаружены во всех исследованных организмах и представлены несколькими классами и многочисленными семействами [28]. МЭ занимают почти половину генома человека и 20% генома *D. melanogaster* [29] и являются основным источником мутаций, в том числе тех, которые вызывают рак и нарушения развития [30, 31]. Существует множество различных стратегий для ограничения активности МЭ в соматических клетках и предотвращения наследуемых транспозиций в клетках зародышевой линии. Особое внимание уделяется регуляции транскрипции МЭ для подавления первичной стадии их размножения. Транскрипционный сайленсинг достигается двумя основными механизмами, ведущими к формированию неактивной структуры хроматина. Первый и наиболее консервативный механизм компактизации хроматина связан с модификациями гистонов, особенно метилированием лизина 9 гистона 3 (H3K9me), с последующим связыванием и распространением гетерохроматинового белка 1 (HP1) [32]. Вторым мощным механизмом репрессии транскрипции является метилирование ДНК, осуществляемое цитозин-5'-метилтрансферазами [33]. Как модификации гистонов, так и метилирование ДНК нацелены в геноме в значительной степени на МЭ, вызывая репрессию их транскрипции. Главный вопрос заключается в том, как рекрутировать эти универсальные механизмы именно к МЭ? В соматических клетках позвоночных важную роль в метилировании ДНК и гистонов на последовательностях эндогенных ретровирусов играют белки семейства KRAB-ZFP (KRAB-containing zinc finger proteins) [34, 35].

Наиболее консервативной, практически универсальной для множества видов растений и животных системой распознавания «своей-чужой» является РНК-интерференция. Пути с участием белков семейства Argonaute и связан-

ных с ними коротких РНК считают иммунитетом на уровне нуклеиновых кислот, т.к. эти механизмы способны сиквенс-специфически распознать и элиминировать чужеродные нуклеиновые кислоты, принадлежащие вирусам, МЭ, трансгенам. Защита соматических клеток от вирусов осуществляется с помощью РНК-интерференции, белков Argonaute и малых интерферирующих РНК (small interfering RNA, siРНК) длиной в 21 нуклеотид. В гонадах животных действует особая система защиты от МЭ и вирусов, которая обеспечивается белками подсемейства Piwi семейства Argonaute и ассоциированными с ними короткими РНК — piРНК — длиной 24–30 нуклеотидов [36, 37]. Важная особенность этой системы состоит в том, что комплекс Piwi–piРНК способен сиквенс-специфично индуцировать модификации хроматина МЭ, т.е. вызывать транскрипционный сайленсинг. Ядерные белки Piwi в комплексе с piРНК индуцируют формирование неактивного хроматина, используя комплементарность piРНК и новообразованной мРНК МЭ. Это многостадийный процесс, требующий взаимодействия нескольких линкерных и вспомогательных белков, их посттрансляционных модификаций, приводящих к конформационным изменениям, затем к сборке и стабилизации белкового комплекса хроматина, управляемого Piwi–piРНК, и, наконец, на последнем этапе — к рекрутированию универсальных факторов гетерохроматина к МЭ [36, 38]. Такая тонкая регуляция требуется для того, чтобы выключить именно МЭ и предотвратить ошибочную репрессию клеточных генов.

Механизм сайленсинга, опосредованный piРНК, представляет собой многоступенчатый процесс. Основными стадиями этого процесса являются образование длинных одноцепочечных РНК-предшественников в ядре, их процессинг в зрелые piРНК в цитоплазме и piРНК-опосредованный сайленсинг, который может происходить как в ядре (транскрипционный сайленсинг), так и в цитоплазме (посттранскрипционный сайленсинг).

Для выполнения своих функций зрелые piРНК должны комплементарно взаимодействовать с кодирующими транскриптами МЭ, т.е. они должны быть антисмысловыми по отношению к мРНК МЭ. Действительно, значительная доля piРНК в гонадах комплементарна МЭ, т.е. образуется не из мРНК МЭ. Причина и источник образования таких РНК в геноме неочевидны и обеспечиваются особыми механизмами. Считается, что piРНК образуются из длинных одноцепочечных РНК эндогенного

происхождения, называемых piРНК-предшественниками (pre-piРНК) [39, 40]. Наши знания по этому вопросу в основном были получены на модели оогенеза дрозофилы и привели к представлению о том, что piРНК-предшественники и их мишени кодируются разными геномными локусами (рис. 1, а). Нужно сразу отметить, что этот механизм не является универсальным. Это представление возникло на основе секвенирования библиотек коротких РНК, которые выявили скопления уникально картирующихся piРНК в прицентромерном гетерохроматине. Такие районы, являющиеся источником piРНК, были названы piРНК-кластерами [39]. Эти протяжённые области генома размером до 200 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов), обогащённые разрушенными копиями МЭ, кодируют необычные длинные транскрипты, из которых образуются зрелые piРНК, узнающие эухроматиновые активные копии МЭ. Это удивительный пример функционального применения участков генома, рассматриваемых ранее как «мусорная» ДНК. У дрозофилы описаны два типа piРНК-кластеров, одноцепочечные и двухцепочечные, которые транскрибируются в одном или двух направлениях, соответственно, но все они продуцируют антисмысловые piРНК-предшественники. Как они таковыми получаются, легче понять для одноцепочечных piРНК-кластеров, в которых все разрушенные копии МЭ находятся в инвертированном положении по отношению к направлению транскрипции pre-piРНК. Самый известный одноцепочечный piРНК-кластер — это геномный локус *flamenco* *D. melanogaster*, работающий в фолликулярных клетках яичника. Он содержит множество разрушенных копий МЭ на геномной минус-цепи по отношению к направлению транскрипции. Таким образом, зрелые piРНК, образованные из длинных транскриптов локуса *flamenco*, комплементарны мРНК МЭ и запускают их сайленсинг [39, 41]. Такие локусы генерируют piРНК против эндогенных ретровирусов, относящихся к семейству *Gypsy*. Такой сценарий образования piРНК-кластеров повторяется в эволюции. Однонитевые piРНК-кластеры, схожие с локусом *flamenco*, обнаружены у различных видов рода *Drosophila* и комаров [42–44]. Более того, у мышей было обнаружено два одноцепочечных piРНК-кластера, похожих на локус *flamenco*, которые продуцируют короткие piРНК против эндогенных ретровирусов во время сперматогенеза [45].

Второй тип перичентромерных piРНК-кластеров — это двухцепочечные кластеры, которые обеспечивают основную защиту про-

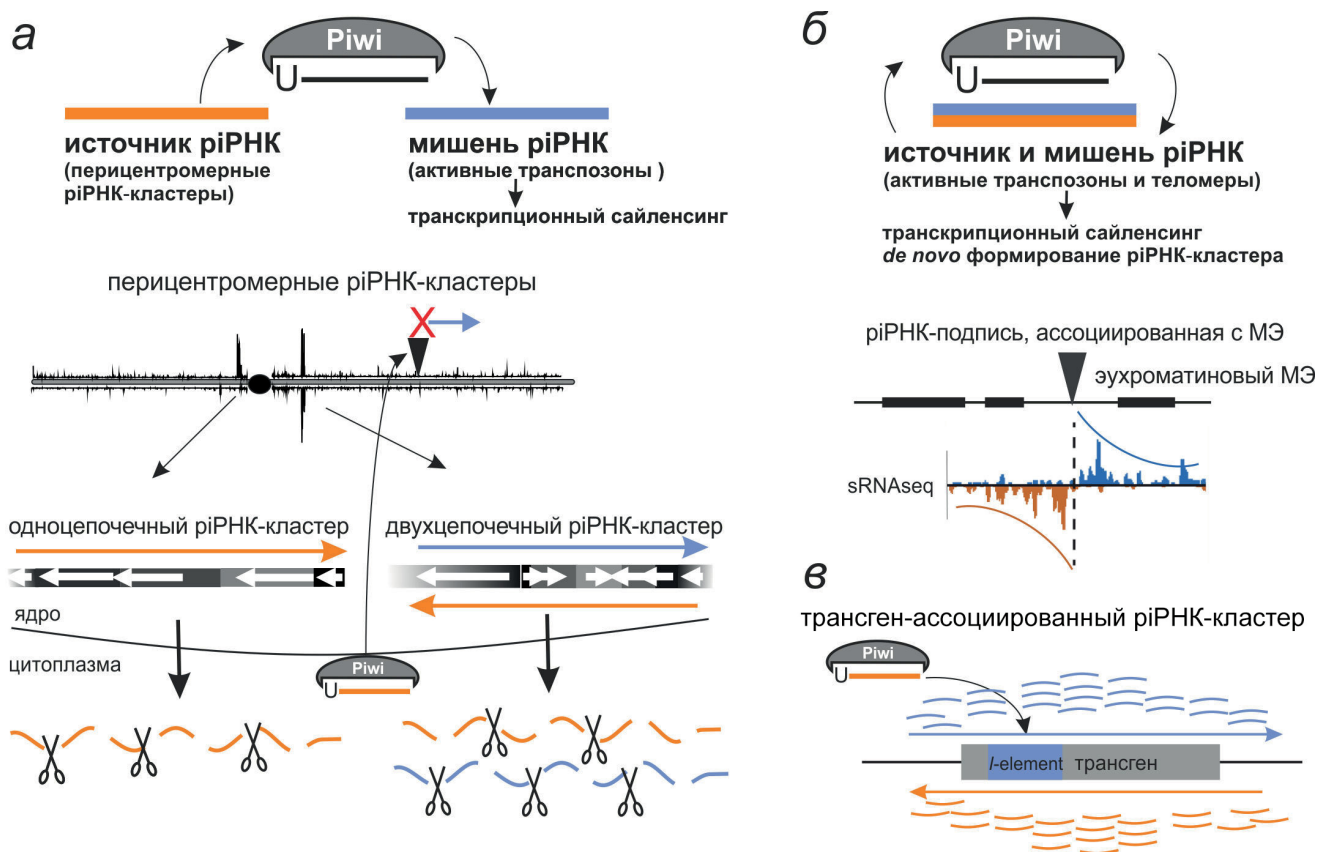


Рис. 1. В каких участках генома образуются предшественники piRNA? *а* – Гетерохроматические перичентромерные кластеры piRNA являются источниками piRNA, которые нацелены на активные МЭ. Схематично показано картирование коротких РНК на хромосому. Показан принцип работы двух типов piRNA-кластеров – одно- и двухцепочечных. Образующийся комплекс Piwi–piRNA распознаёт и сайленсирует активные копии МЭ (чёрный треугольник). *б* – Активные копии МЭ формируют piRNA-кластеры. Схематически показана piRNA-«подпись» для кластеров piRNA, ассоциированных с МЭ. sRNAseq – сиквенсы коротких РНК. *в* – Трансгенная модель демонстрирует, как активные МЭ в эухроматине становятся кластерами piRNA. Piwi в комплексе с эндогенной piRNA к *I*-element распознаёт РНК в комплементарном трансгенном локусе, затем образуются транскрипты с обеих геномных цепей, а из них – короткие РНК

тив МЭ в клетках зародышевой линии дрозофилы. Эти локусы содержат сильно разрушенные копии МЭ, расположенные в случайных ориентациях. Двухцепочечные piRNA-кластеры транскрибируются в двух направлениях, что приводит к образованию длинных некодирующих предшественников piRNA из обеих геномных цепей [46]. Эти транскрипты экспортируются в цитоплазму, где процессируются с образованием зрелых piRNA. Процессинг piRNA является наиболее консервативным этапом piRNA-пути у разных видов. Внешняя митохондриальная мембрана и околоядерный компартмент служат платформой для процессинга piRNA, который происходит в результате действия цитоплазматических белков подсемейства Piwi, заряженных piRNA, и специализированных рибонуклеаз. Мишенями разрезания являются как транскрипты МЭ, так и piRNA-предшественники из кластеров, а в результате последовательного расщепления

смысловых и антисмысловых транскриптов МЭ образуются piRNA обеих ориентаций. Этот механизм, названный «пинг-понг», обнаружен в гонадах всех изученных видов животных и приводит не только к разрезанию мРНК МЭ (посттранскрипционному сайленсингу), но и продукции новых piRNA. Механизмы образования и амплификации piRNA, а также факторы их процессинга подробно описаны в недавних всеобъемлющих обзорах [36, 37, 47].

Считается, что двухцепочечные piRNA-кластеры – хранилища информации в геноме о ранее происходивших инвазиях МЭ и своеобразные ловушки для МЭ, т.к. их попадание туда приведёт к образованию piRNA и подавлению активности родственных копий в геноме [48]. Однако двухцепочечные piRNA-кластеры оказались видоспецифичными для *Drosophila* и некоторых видов членистоногих, т.к. они не были обнаружены у подавляющего числа изученных видов животных, включая

млекопитающих. Остаётся открытым вопрос: существует ли консервативный механизм образования рiРНК-предшественников, антисмысловых по отношению к МЭ. Например, у млекопитающих, несмотря на наличие огромного количества разрушенных копий МЭ в геноме, смысловые и антисмысловые рiРНК образуются из индивидуальных копий эволюционно молодых активных ретротранспозонов [45].

Действительно, рiРНК-путь, нацеленный на подавление распространения МЭ в геноме, должен быть в первую очередь направлен на активные копии МЭ. Более детальный анализ библиотек коротких РНК из яичников дрозофилы выявил, что не только гетерохроматиновые рiРНК-кластеры, но и полноразмерные эухроматиновые копии МЭ генерируют короткие РНК — как рiРНК, так и siРНК. Это говорит о том, что в местах недавних вставок МЭ происходит формирование новых локальных двухцепочечных рiРНК-кластеров [49], что напоминает сценарий образования рiРНК из активных копий LINE1 у человека [45]. Отличительной особенностью таких МЭ-ассоциированных рiРНК-кластеров является рiРНК-«подпись» — асимметричный профиль распределения коротких РНК до и после встройки МЭ, возникающий в результате сквозной транскрипции предшественников рiРНК в прилежащие к МЭ участки генома (рис. 1, б). Такая «подпись» очень характерна и может быть использована для предсказания неаннотированных встроек МЭ в геноме. Более того, распространение продукции коротких РНК за пределы МЭ может затрагивать соседние гены, подавляя их экспрессию [49]. Таким образом, активные МЭ служат не только мишенями рiРНК-системы, вызывающей компактизацию хроматина, но и источником коротких РНК, т.к. могут обеспечить продукцию siРНК и рiРНК *de novo*. Теломерные ретротранспозоны дрозофилы, расположенные в виде tandemных повторов в теломере, являются также источником и мишенью рiРНК, что обеспечивает регуляцию экспрессии теломерных ретротранспозонов по типу обратной связи, что будет обсуждаться более подробно в следующей главе.

Механизм, который лежит в основе формирования новых рiРНК-кластеров, ассоциированных с МЭ, и в особенности механизм генерации двунаправленной транскрипции, до конца неясен. Антисмысловые промоторы известны лишь для единичных представителей МЭ и являются, скорее, исключением. Например, антисмысловой промотор ретротранспозона человека LINE1 и образуемые с него транскрипты участвуют в siРНК-опосредован-

ном механизме супрессии транспозиций LINE1 [50, 51]. В случае узнавания комплексом Piwi–рiРНК комплементарных транскриптов, по-видимому, индуцируется необычный тип конвергентной транскрипции геномных локусов, содержащих активные копии МЭ. Этот процесс зависит от геномного контекста встройки; встречная транскрипция в локусе инсерции МЭ способствует формированию рiРНК-кластера [52]. Транскрипты, образующиеся с обеих геномных цепей, затем процессируются с образованием зрелых pi/siРНК. Такой сценарий имеет очевидное биологическое значение, заключающееся в амплификации защитных рiРНК, которые направлены против наиболее агрессивных транскрипционно активных копий МЭ. Исследование трансгенов, содержащих фрагмент ДНК, на который нацелены эндогенные рiРНК, позволило значительно продвинуться в понимании механизма формирования рiРНК-кластеров *de novo* [53–55]. Было показано, что трансгенные конструкции на основе МЭ — *I-element* — могут становиться новыми рiРНК-кластерами. Формирование таких рiРНК-кластеров *de novo* сопровождается возникновением низкого уровня транскрипции с минус-цепи и образованием смысловых и антисмысловых pi- и siРНК как из всего трансгена, так и из прилегающих геномных последовательностей на расстоянии от 1 до 10 т.п.н. от трансгена [56, 57] (рис. 1, в).

Сценарий, при котором активный МЭ является источником рiРНК, должен давать селективные преимущества и быть эволюционно выгодным. Вопрос о том, почему в ходе эволюции у *Drosophila* и других членистоногих сохранились протяжённые гетерохроматиновые рiРНК-кластеры, обслуживаемые особым транскрипционным аппаратом, остаётся открытым. Недавно появились данные о том, что удаление наиболее протяжённых периферических рiРНК-кластеров у *D. melanogaster* не приводит к дерепрессии МЭ [58]. Это указывает на то, что гетерохроматиновые рiРНК-кластеры не играют решающей роли в сайленсинге МЭ в стабильной лабораторной линии. С большой вероятностью эту функцию успешно выполняют МЭ-ассоциированные рiРНК-кластеры, которые формируются с помощью рiРНК, унаследованных от матери через цитоплазму ооцита [59].

По-видимому, ответ нужно искать в особенностях среды обитания разных видов. Природные популяции членистоногих подвергаются горизонтальному переносу МЭ, включая реинвазию родственных МЭ, ранее утраченных в геноме [60, 61]. Память о прежних инва-

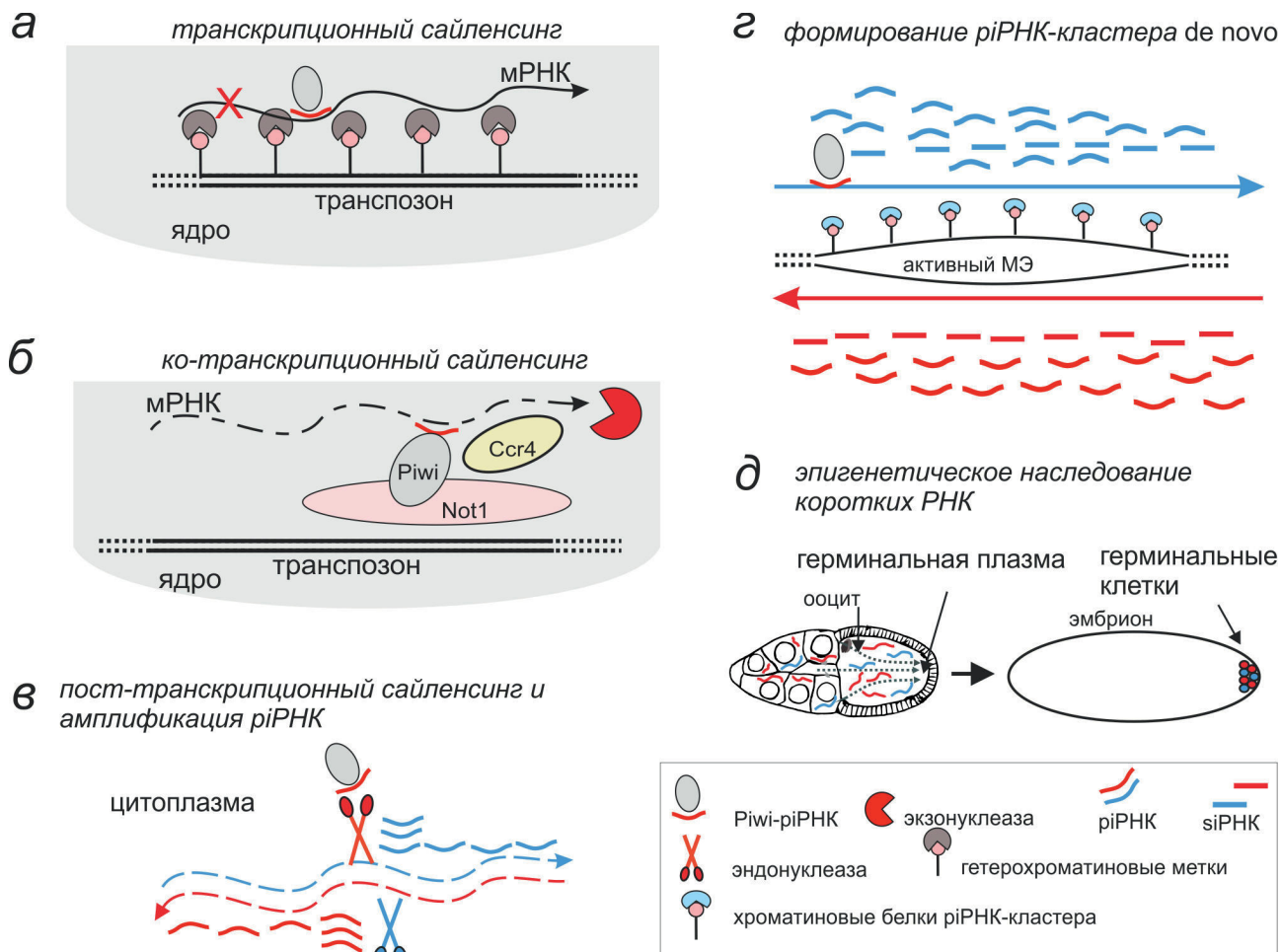


Рис. 2. Система с участием piRNA представляет собой многоуровневый механизм. У *Drosophila* piRNA могут индуцировать следующие процессы: (а) транскрипционную репрессию и компактизацию хроматина, (б) ко-транскрипционную деградацию новообразованной РНК в ядре с участием деаденилазного ядерного комплекса Ccr4-Not, (в) посттранскрипционную деградацию РНК, сопровождающуюся амплификацией piRNA, в цитоплазме, (г) продукцию piRNA *de novo* на активных МЭ за счёт активации антисмысловой транскрипции, (д) передачу материнских piRNA в комплексе с белками подсемейства Piwi потомству через герминальную плазму ооцита

зиях МЭ, хранящаяся в виде их фрагментов в составе piRNA-кластеров, может спасти популяцию при повторном заражении родственными МЭ за счёт наличия комплементарных piRNA и активации piRNA-опосредованного сайленсинга [39, 52, 57, 59, 62].

Идея о том, что активные копии МЭ служат первичными мишенями piRNA-пути, подтверждается недавно открытым механизмом ко-транскрипционной деградации транскриптов МЭ [63]. Несмотря на формирование гетерохроматина в локусах, содержащих активные копии МЭ, они тем не менее способны транскрибироваться в клетках зародышевой линии. Избыток транскриптов МЭ в ядрах клеток зародышевой линии дрозофилы удаляется за счёт активности ядерного комплекса Ccr4-Not, который обладает деаде-

нильной активностью [64]. Он привлекается ко-транскрипционно к транскриптам мобильных элементов за счёт взаимодействия с ядерным комплексом Piwi-piRNA. Скорее всего, за счёт деаденилазной активности комплекса Ccr4-Not происходит удаление поли(А)-хвоста на 3'-конце мРНК МЭ. Такие транскрипты могут распознаваться ядерной системой контроля качества РНК как aberrантные и подвергаться экзонуклеазному расщеплению. Примечательно, что мишенями ядерного комплекса Ccr4-Not в основном являются активные полноразмерные копии МЭ и теломерные ретротранспозоны [63].

Подводя итоги этого краткого обзора системы контроля МЭ с помощью piRNA, можно сказать, что piRNA могут индуцировать несколько важных процессов, которые направ-

лены на подавление активности МЭ (рис. 2). рiРНК индуцируют транскрипционный сайленсинг в ядре, приводящий к сборке гетерохроматина в локусах МЭ [65–67]. Эта система также работает на ко-транскрипционном уровне, вызывая деграцию транскриптов МЭ в сайтах транскрипции с помощью ядерных нуклеаз [63]. рiРНК-система осуществляет пост-транскрипционное расщепление транскриптов МЭ в цитоплазме, что сопровождается амплификацией рiРНК и их последующим наследованием через цитоплазму ооцита [39, 59, 68–71]. Важно, что рiРНК могут инициировать образование *de novo* рiРНК-кластеров на полноразмерных эухроматиновых встройках МЭ, стимулируя антисмысловую транскрипцию МЭ и всплеск продукции рiРНК против наиболее активных МЭ [49]. Более того, быстрая эволюция белков, участвующих в рiРНК-пути, обеспечивает высокую адаптивность этой системы к новым мишеням [72–74]. Несмотря на огромный потенциал рiРНК и других систем защиты от МЭ, паразитические МЭ успешно обходят их, продолжая размножаться, вызывая вредные мутации, заболевания и нарушения развития.

Таким образом, создаётся парадоксальная ситуация, при которой для подавления активности МЭ требуется его активность, за счёт которой работает рiРНК-система. По всей видимости, далекая от 100% эффективность этой и других систем защиты позволяет МЭ размножаться в допустимых пределах, поставляя материал для эволюции генома и позитивного отбора, а также позволяя работать некоторым жизненно важным системам, например, теломерам. Подробнее на этом явлении остановимся ниже.

РОЛЬ КОРОТКИХ рiРНК В РЕГУЛЯЦИИ ТЕЛОМЕР *Drosophila*

Нарушение рiРНК-системы у дрозофилы приводит не только к активации МЭ, но и к чрезмерному удлинению теломер за счёт увеличения частоты присоединения ретротранспозонов к теломерам [75]. Это происходит потому, что в клетках зародышевой линии истощается пул коротких рiРНК, специфичных к теломерным ретротранспозонам. Действительно, система рiРНК не делает различий между теломерными и паразитическими ретротранспозонами и процессирует транскрипты теломерных ретротранспозонов с образованием рiРНК в клетках зародышевой линии. Уменьшение количества таких рiРНК, напри-

мер, при мутации генов, участвующих в этом пути, приводит к накоплению транскриптов теломерных МЭ, которые, в свою очередь, являются интермедиатами удлинения теломер. Теломеры дрозофилы образованы специализированными МЭ, которые не встречаются в других геномных локусах. Тандемные кластеры теломерных ретротранспозонов являются как источником рiРНК, так и их мишенью, что представляет собой уникальный пример саморегулируемого рiРНК-кластера. Теломерные ретротранспозоны дрозофилы обладают двунаправленными промоторами, что обеспечивает при расположении теломерных копий «голова-к-хвосту» образование как смысловых, так и антисмысловых транскриптов, из которых затем процессируют теломерные рiРНК [76–79]. *Drosophila* не является единственным примером такой регуляции – белки Piwi также участвуют в регуляции транспозиций теломерных ретротранспозонов SART и TRAS у тутового шелкопряда *Bombyx mori* [80].

Типичным свойством теломер является их гетерохроматиновое состояние. В клетках зародышевой линии дрозофилы гетерохроматиновые факторы привлекаются к теломерным ретротранспозонам с участием рiРНК-системы [81]. При нарушении работы рiРНК-системы на теломерных повторах происходит снижение количества основного белка гетерохроматина HP1 и гистоновой модификации H3K9me3. С таким глобальным изменением структуры теломерного хроматина связано смещение теломерных кластеров хромосом от периферии ядра, наблюдаемое в герминальных клетках яичников у рiРНК мутантов дрозофилы [81]. Транскрипция наиболее представленного теломерного повтора дрозофилы – ретротранспозона *HeT-A* – также регулируется в ядре на ко-транскрипционном уровне с помощью привлечения деаденилазного комплекса Csr4-Not [63]. С помощью методов конфокальной микроскопии обнаружено формирование околотеломерных телец, содержащих белковый комплекс Csr4-Not, белок Piwi и факторы ядерного экспорта РНК [63]. Интересно параллель с биогенезом теломеразной РНК человека, в котором также принимают участие неканонические деаденилазы Csr4 и Caf1, сконцентрированные в ядерных тельцах Кахалы [82]. Таким образом, рiРНК-система и деаденилаза Csr4-Not участвуют как в подавлении активности паразитических МЭ, так и в регуляции функций теломер дрозофилы.

рiРНК-система является негативным регулятором длины теломер у дрозофилы, т.е. чем активнее она работает, тем реже происходят

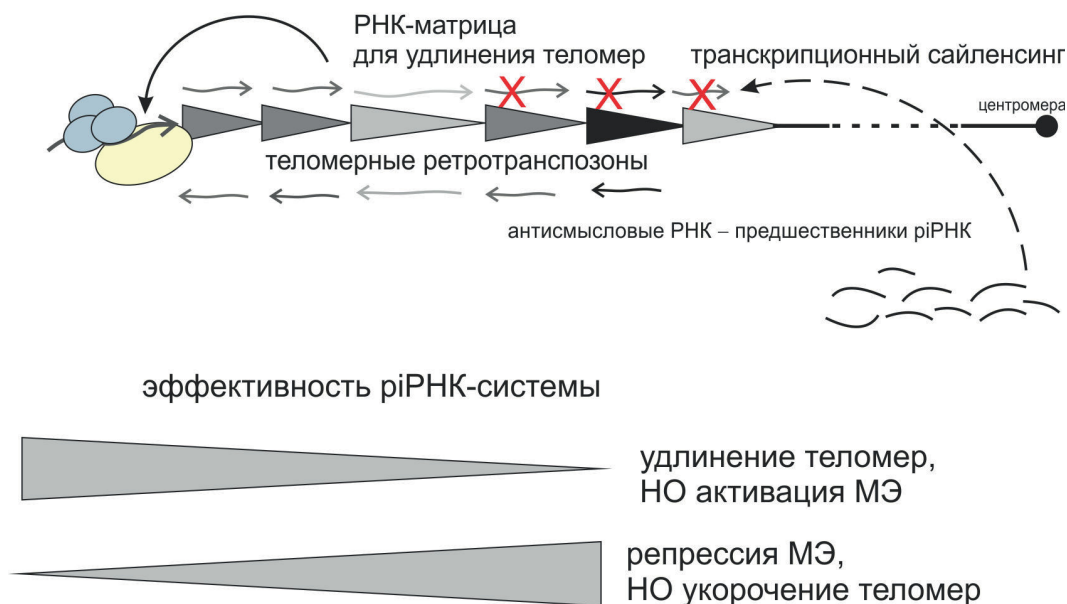
Drosophila melanogaster

Рис. 3. Механизмы, регулирующие поддержание теломер и контроль МЭ, тесно связаны. Система piРНК контролирует как активность паразитических МЭ, так и частоту присоединения теломерных ретротранспозонов на концы хромосом в зародышевой линии дрозофилы

удлинения теломер. Сложная система обратной связи регулирует уровень теломерных транскриптов, теломерных piРНК, состояние теломерного хроматина, чтобы обеспечить необходимую для нормального развития частоту присоединений теломерных ретроэлементов к концам хромосом. Эту сложную систему контроля длины теломер ещё больше усложняет то, что механизм с участием piРНК должен успешно подавлять активность МЭ. Действительно, нарушение piРНК-системы приводит не только к повышенной частоте теломерных присоединений, но и к активации МЭ и стерильности [75]. Противоположную ситуацию, т.е. активацию piРНК-системы и чрезмерное укорочение теломер, удалось наблюдать на одной из природных линий дрозофилы. Дело в том, что из-за высокой вариабельности белков, участвующих в piРНК-пути, среди природных популяций дрозофил наблюдается различная эффективность процессинга piРНК, что определяет разную степень защиты генома от инвазии новых МЭ [83]. У мух, обладающих наиболее эффективным процессингом piРНК, отсутствовали полноразмерные копии основного структурного элемента теломер – ретротранспозона *HeT-A*. Такая линия обладала сниженной фертильностью и жизнеспособностью. Вполне вероятно, что высокоэффективная работа piРНК-системы, приводящая к мощной репрессии МЭ, также должна вызы-

вать критическое укорочение теломер. На основе этих данных, пока ещё фрагментарных, хочется предположить, что защитная piРНК-система не может бесконечно повышать свою эффективность и успешно удалять из генома МЭ, а, скорее, должна быть хорошо сбалансирована, чтобы защитить геном от неконтролируемого размножения МЭ и обеспечить надлежащее поддержание длины теломер (рис. 3).

КОГДА И ПОЧЕМУ ПРОИСХОДИТ АКТИВАЦИЯ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАЗВИТИИ?

Для понимания механизмов регуляции МЭ стоит посмотреть, на каких этапах жизненного цикла происходит их активация в ходе нормального развития (рис. 4, *а, б, в*). Кратковременная активация МЭ наблюдается на ранних стадиях гаметогенеза у различных видов [84]. У *Drosophila* существует короткий интервал на ранних стадиях оогенеза, когда снижается уровень ядерного белка Piwi и происходит активация транскрипции МЭ [85]. Транскрипты МЭ, образующиеся на этой стадии, процессируются в цитоплазме с образованием коротких piРНК с помощью других белков подсемейства Piwi. Когда экспрессия Piwi выходит вновь на высокий уровень, piРНК МЭ обеспечивают подавление их собственной транскрипции

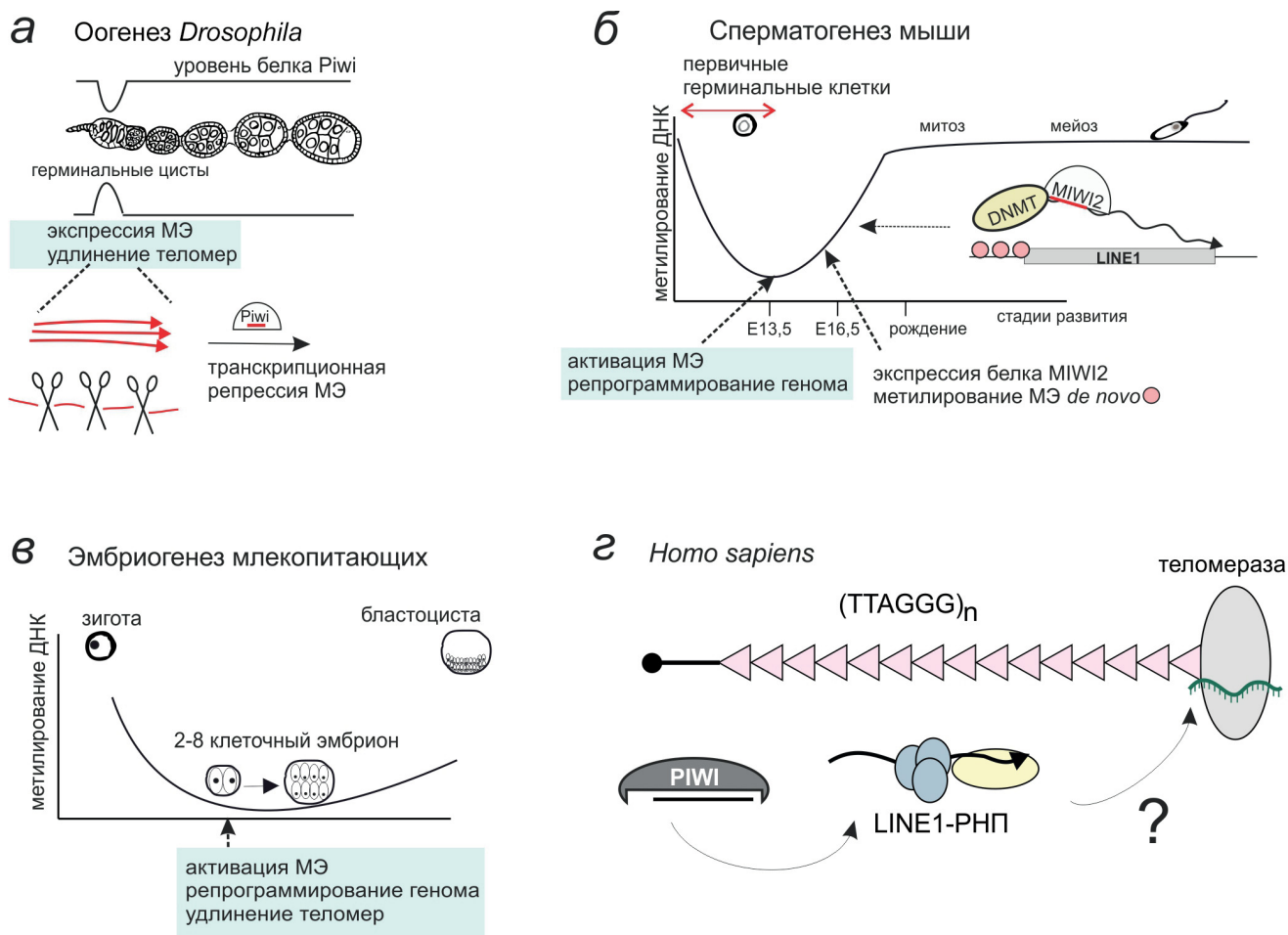


Рис. 4. Стадии развития, на которых происходит активация МЭ. *а* – В оогенезе дрозофилы активация МЭ и теломерных ретротранспозонов происходит в герминальных цистах, когда снижается уровень белка Piwi. На этой стадии образуются piРНК, которые запускают транскрипционный сайленсинг на последующих стадиях оогенеза. Предполагается, что на этой же стадии происходит удлинение теломер за счёт ретротранспозиций теломерных ретроэлементов. *б* – Глобальное деметилирование ДНК в первичных зародышевых клетках во время сперматогенеза у мышей сопровождается активацией МЭ. Затем устанавливается piРНК-опосредованное *de novo* ДНК-метилирование эволюционно молодых активных копий LINE1. *в* – Мобилизация МЭ и удлинение теломер наблюдаются также во время первых зиготических делений в эмбриогенезе млекопитающих. *з* – Репрессия LINE1 с помощью piРНК может опосредованно влиять на его теломерные функции в герминальных клетках млекопитающих (гипотеза)

на более поздних стадиях оогенеза [86]. На ранних стадиях оогенеза, где отсутствует белок Piwi, также наблюдали активацию транскрипции теломерных ретроэлементов *HeT-A* и *TART*, которая приводила к образованию интермедиатов удлинения теломер [66, 87, 88]. Такими интермедиатами у *D. melanogaster* являются сферические рибонуклеопротеиновые (РНП) частицы, состоящие из белка Gag, кодируемого ретротранспозоном *HeT-A*, заполненные РНК *HeT-A* и способные направленно локализоваться на теломере [89, 90]. Впервые такие *HeT-A*-сферы были обнаружены в активно пролиферирующих клетках мозга у личинок, а их появление на теломерах совпадало с репликацией теломер [89]. Основной структурный компонент теломер дрозофилы, *HeT-A*, является неавтономным, а обратная транскрип-

таза предоставляется другими теломерными ретроэлементами – *TART* и/или *TANRE*. Действительно, ревертаза *TART* была обнаружена также в составе *HeT-A*-сфер в нейробластах [91]. Такие РНП, вероятно, и осуществляют ретротранспозиции теломерных элементов на концы хромосом, удлиняя теломеры дрозофилы. В норме транскрипция теломерных ретротранспозонов *HeT-A* и *TART* наблюдается в герминальных цистах яичника, а при нарушении системы piРНК появляются сферические частицы, состоящие из РНК и белка Gag, кодируемых *HeT-A* [87]. По-видимому, удлинение теломер происходит на тех же стадиях, на которых активируются МЭ. Наиболее вероятно, что это связано с ослаблением piРНК-защиты и накоплением транскриптов теломерных элементов, а также с глобальной декомпактизацией

гетерохроматина и большей доступностью концов хромосом в дробящихся клетках-предшественниках гамет. Действительно, нарушения таких факторов гетерохроматина, как HP1, деметилазы гистонов Lsd1 и её кофактора Ova, метилтрансферазы dSetdB1 и Suvar3-9, приводят как к активации МЭ, так и накоплению транскриптов теломерных повторов [92–98], а у мутантов по гену *Su(var)2-5*, кодирующему HP1, и к удлинению теломер [98]. Похожий сценарий можно наблюдать у других животных. У млекопитающих активация экспрессии эволюционно молодых подсемейств ретроэлемента LINE1 происходит в примордиальных клетках мужской зародышевой линии в период пренатального развития и совпадает с глобальным деметилированием геномной ДНК [99]. У мышей на более поздних стадиях сперматогенеза появление белка подсемейства Piwi, MILI2, запускает продукцию рiРНК, рекрутирование ДНК-метилазы и установление рiРНК-опосредованного *de novo* метилирования ДНК на последовательностях LINE1 [100].

В развитии млекопитающих происходит две волны деметилирования и реметилирования ДНК – в первичных герминальных клетках и на ранней стадии эмбриогенеза [101]. Считается, что глобальное деметилирование генома в первичных зародышевых клетках гонад во время пренатального развития млекопитающих необходимо для перепрограммирования эпигенома и установления паттерна метилирования ДНК *de novo*, в том числе на последовательностях активных ретротранспозонов [102, 103]. Деметилирование ДНК также необходимо для удлинения теломер на ранней эмбриональной стадии, что сопровождается повышенным уровнем транскрипции многих ретротранспозонов на этой стадии развития [104–106]. Важную роль в поддержании деметилированного состояния ДНК и дерепрессии гетерохроматина в культивируемых эмбриональных стволовых клетках, индуцированных плюрипотентных стволовых клетках и 2-клеточных эмбрионах играет транскрипционный фактор Zscan4 (Zinc finger and SCAN domain containing 4) [107]. Zscan4 активирует экспрессию генов, участвующих в гомологичной рекомбинации, что стимулирует рекомбинационный механизм удлинения теломер в эмбриональных стволовых клетках, 2-клеточных эмбрионах и опухолевых клетках типа ALT (alternative lengthening of telomeres), использующих рекомбинацию для удлинения теломер [105, 106, 108]. В преимплантационных эмбрионах наблюдается также активация ретротранспозона LINE1 и эндогенных ретрови-

русов [109–112]. Интересно, что ингибирование LINE1 приводит к нарушению экспрессии факторов плюрипотентности, в том числе Zscan4, и блокирует удлинение теломер в эмбриональных стволовых клетках [113]. В свою очередь, РНК LINE1 играет роль репрессора транскрипции гена *Dux*, что необходимо для выхода клеток из состояния 2С и продолжения развития [114]. Также обнаружено, что промоторы генов ранней дифференцировки содержат регуляторные участки эндогенных ретровирусов и регулируются кодируемыми ими белками [115]. Таким образом, активация МЭ происходит во время коротких периодов развития, связанных с перепрограммированием генома и удлинением теломер у млекопитающих. Более того, эти процессы взаимосвязаны тонкой регуляторной сетью, правильный баланс которой необходим для нормального развития.

В процессе естественного старения, как и при синдромах преждевременного старения, наблюдаются сходные для МЭ и теломерных повторов декомпактизация хроматина и активация экспрессии, приводящие к повреждениям ДНК и клеточной гибели [116, 117], что ещё раз подчёркивает общность эпигенетической регуляции теломер и МЭ на разных этапах развития.

УЧАСТИЕ LINE1 В ПОДДЕРЖАНИИ ТЕЛОМЕР МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Сходство механизмов контроля МЭ и регуляции теломер кажется очевидным для дрозофилы, где теломеры поддерживаются за счёт присоединений ретротранспозонов к концам хромосом. У большинства организмов теломеры поддерживаются за счёт активности теломеразы – узкоспециализированной обратной транскриптазы, компоненты которой кодируются обычными генами. Накапливается всё больше данных, которые говорят об участии ретротранспозонов в функционировании теломер у млекопитающих. При дисфункции компонентов защитного теломерного комплекса – шелтерина – ретротранспозон LINE1 способен присоединяться с помощью обратной транскрипции к теломере в клетках человека и становиться структурной частью теломерной ДНК [17]. Кроме того, LINE1 также способен играть роль в функционировании теломер. В раковых клетках человека на фоне нокдауна LINE1 наблюдалось снижение экспрессии белков шелтерина, падение активности теломеразы и укорочение теломер [118]. Как уже упоминалось, ингибирование активности LINE1 у 2-клеточных эмбрионов мышей блокирует

удлинение теломер и перепрограммирование генома [113]. Более того, РНП-частицы, состоящие из РНК и белков, кодируемых LINE1, были обнаружены непосредственно на концах теломер в раковых клетках человека и в 2-клеточных эмбрионах мыши. Наконец, LINE1-РНП были выявлены в комплексе с РНК, содержащей теломерные повторы (TERRA) [113, 119]. Похоже, что LINE1 является активным участником биогенеза теломер, хотя остаются открытыми вопросы о том, как LINE1 туда попадает и какие компоненты теломер он распознаёт. Учитывая существенную роль LINE1 в функционировании теломер, можно предположить наличие опосредованной связи между рiРНК-системой, регулирующей экспрессию LINE1 в герминальных клетках, и теломерами у видов, использующих теломеразу (рис. 4, з).

Изложенные данные обнаруживают удивительное сходство во временных интервалах и в механизмах, регулирующих поддержание теломер и контроль МЭ в геноме у млекопитающих. Изучение такой связи открывает новые перспективы в возможностях регуляции теломер в развитии, старении и в опухолевых клетках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отношения между геномом хозяина и МЭ часто определяют как геномный конфликт, и механизмы, лежащие в основе этого конфликта, сложны и противоречивы [120]. В те годы, когда ещё не были известны молекулярные механизмы контроля МЭ, анализ популяционной динамики МЭ выявил, что существует баланс между скоростью размножения МЭ и механизмами, которые ограничивают этот процесс, что приводит к поддержанию стабильного числа копий МЭ в геноме [121]. По-видимому, чрезмерное подавление активности МЭ не даёт селективного преимущества хозяину, что подтверждено современными методами анализа геномных данных природных популяций дрозофилы. Так, например, количество рiРНК не коррелирует с транспозиционной активностью МЭ, т.е. рiРНК-система неоптимально адаптирована к защите генома от МЭ [122].

Усовершенствование быстро адаптируемой рiРНК-системы, вероятно, ограничено её участием в ключевых регуляторных функциях, что создаёт конфликт между МЭ и геномом. Можно предположить, что механизмы, приводящие к уменьшению числа копий эгоистичных МЭ, отрицательно влияют на критические клеточные функции, выполняемые одомашненными МЭ, и именно эта связь обеспечивает выживание эгоистичных МЭ в геноме. Каков механизм этого геномного компромисса? Мы думаем, что часть ответа можно найти в ретротранспозонном происхождении теломер и теломеразы. Активация МЭ в развитии совпадает с перепрограммированием генома, стиранием эпигенетических меток и удлинением теломер. У *Drosophila* двойственная роль рiРНК-системы в поддержании целостности теломер и репрессии МЭ обусловлена природой теломер, которые образованы ретротранспозонами. Однако теломеразу также можно рассматривать как специализированный ретроэлемент, который унаследовал функциональную связь с ретротранспозонами, населяющими геном. Таким образом, мы приходим к выводу, что защитные механизмы могут лишь частично подавить активность эгоистичных МЭ, будучи сбалансированы для выполнения жизненно важных функций, например, связанных с поддержанием теломер. Однако нет худа без добра – растущий объём данных указывает на огромный вклад одомашненных МЭ в разнообразие регуляторных механизмов, которые в конечном итоге приносят эволюционные преимущества геному хозяина.

Вклад авторов. А.И. Калмыкова – концепция и написание текста статьи; О.А. Соколова – написание и редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-24-00025, рук. О.А. Соколова).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fueyo, R., Judd, J., Feschotte, C., and Wysocka, J. (2022) Roles of transposable elements in the regulation of mammalian transcription, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 481-497, doi: 10.1038/s41580-022-00457-y.
2. Modzelewski, A. J., Gan Chong, J., Wang, T., and He, L. (2022) Mammalian genome innovation through transposon domestication, *Nat. Cell Biol.*, **24**, 1332-1340, doi: 10.1038/s41556-022-00970-4.

3. Almojil, D., Bourgeois, Y., Falis, M., Hariyani, I., Wilcox, J., and Boissinot, S. (2021) The structural, functional and evolutionary impact of transposable elements in eukaryotes, *Genes (Basel)*, **12**, 918, doi: 10.3390/genes12060918.
4. Nishihara, H. (2020) Transposable elements as genetic accelerators of evolution: contribution to genome size, gene regulatory network rewiring and morphological innovation, *Genes Genet. Syst.*, **94**, 269-281, doi: 10.1266/ggs.19-00029.
5. Hartley, G., and O'Neill, R. J. (2019) Centromere repeats: hidden gems of the genome, *Genes (Basel)*, **10**, 223, doi: 10.3390/genes10030223.
6. Chang, C. H., Chavan, A., Palladino, J., Wei, X., Martins, N. M. C., Santinello, B., Chen, C. C., Erceg, J., Beliveau, B. J., Wu, C. T., Larracuenta, A. M., and Mellone, B. G. (2019) Islands of retroelements are major components of *Drosophila* centromeres, *PLoS Biol.*, **17**, e3000241, doi: 10.1371/journal.pbio.3000241.
7. Chueh, A. C., Northrop, E. L., Brettingham-Moore, K. H., Choo, K. H., and Wong, L. H. (2009) LINE retrotransposon RNA is an essential structural and functional epigenetic component of a core neocentromeric chromatin, *PLoS Genet.*, **5**, e1000354, doi: 10.1371/journal.pgen.1000354.
8. Nelson, J. O., Slicko, A., and Yamashita, Y. M. (2023) The retrotransposon R2 maintains *Drosophila* ribosomal DNA repeats, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **120**, e2221613120, doi: 10.1073/pnas.2221613120.
9. Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides [in Russian], *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **201**, 1496-1499.
10. Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
11. Blackburn, E. H. (1992) Telomerases, *Annu. Rev. Biochem.*, **61**, 113-129, doi: 10.1146/annurev.bi.61.070192.000553.
12. Garavis, M., Gonzalez, C., and Villasante, A. (2013) On the origin of the eukaryotic chromosome: the role of noncanonical DNA structures in telomere evolution, *Genome Biol. Evol.*, **5**, 1142-1150, doi: 10.1093/gbe/evt079.
13. Gladyshev, E. A., and Arkhipova, I. R. (2007) Telomere-associated endonuclease-deficient *Penelope*-like retroelements in diverse eukaryotes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 9352-9357, doi: 10.1073/pnas.0702741104.
14. Nakamura, T. M., and Cech, T. R. (1998) Reversing time: origin of telomerase, *Cell*, **92**, 587-590, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81123-x.
15. Eickbush, T. H. (1997) Telomerase and retrotransposons: which came first? *Science*, **277**, 911-912, doi: 10.1126/science.277.5328.911.
16. Kordyukova, M., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2018) Transposon control mechanisms in telomere biology, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **49**, 56-62, doi: 10.1016/j.gde.2018.03.002.
17. Morrish, T. A., Garcia-Perez, J. L., Stamato, T. D., Taccioli, G. E., Sekiguchi, J., and Moran, J. V. (2007) Endonuclease-independent LINE-1 retrotransposition at mammalian telomeres, *Nature*, **446**, 208-212, doi: 10.1038/nature05560.
18. Roth, C. W., Kobeski, F., Walter, M. F., and Biessmann, H. (1997) Chromosome end elongation by recombination in the mosquito *Anopheles gambiae*, *Mol. Cell. Biol.*, **17**, 5176-5183, doi: 10.1128/MCB.17.9.5176.
19. Compton, A., Liang, J., Chen, C., Lukyanchikova, V., Qi, Y., Potters, M., Settlege, R., Miller, D., Deschamps, S., Mao, C., Llaca, V., Sharakhov, I. V., and Tu, Z. (2020) The beginning of the end: a chromosomal assembly of the new world malaria mosquito ends with a novel telomere, *G3 (Bethesda)*, **10**, 3811-3819, doi: 10.1534/g3.120.401654.
20. Mason, J. M., Randall, T. A., and Capkova Frydrychova, R. (2016) Telomerase lost? *Chromosoma*, **125**, 65-73, doi: 10.1007/s00412-015-0528-7.
21. Pardue, M. L., and DeBaryshe, P. G. (2008) *Drosophila* telomeres: a variation on the telomerase theme, *Fly*, **2**, 101-110, doi: 10.4161/fly.6393.
22. Casacuberta, E. (2017) *Drosophila*: retrotransposons making up telomeres, *Viruses*, **9**, 192, doi: 10.3390/v9070192.
23. Fujiwara, H., Osanai, M., Matsumoto, T., and Kojima, K. K. (2005) Telomere-specific non-LTR retrotransposons and telomere maintenance in the silkworm, *Bombyx mori*, *Chromosome Res.*, **13**, 455-467, doi: 10.1007/s10577-005-0990-9.
24. Guerra, M., Kenton, A., and Bennett, M. D. (1996) rDNA sites in mitotic and polytene chromosomes of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. and *Phaseolus coccineus* L. revealed by *in situ* hybridization, *Ann. Botany*, **78**, 157-161, doi: 10.1006/anbo.1996.0108.
25. Iwata-Otsubo, A., Lin, J. Y., Gill, N., and Jackson, S. A. (2016) Highly distinct chromosomal structures in cowpea (*Vigna unguiculata*), as revealed by molecular cytogenetic analysis, *Chromosome Res.*, **24**, 197-216, doi: 10.1007/s10577-015-9515-3.
26. Zhimulev, I. F. (1996) Morphology and structure of polytene chromosomes, *Adv. Genet.*, **34**, 1-497, doi: 10.1016/s0065-2660(08)60533-7.
27. Jedlicka, P., Tokan, V., Kejnovska, I., Hobza, R., and Kejnovsky, E. (2023) Telomeric retrotransposons show propensity to form G-quadruplexes in various eukaryotic species, *Mob. DNA*, **14**, 3, doi: 10.1186/s13100-023-00291-9.
28. Wells, J. N., and Feschotte, C. (2020) A field guide to eukaryotic transposable elements, *Annu. Rev. Genet.*, **54**, 539-561, doi: 10.1146/annurev-genet-040620-022145.

29. Merel, V., Boulesteix, M., Fablet, M., and Vieira, C. (2020) Transposable elements in *Drosophila*, *Mob. DNA*, **11**, 23, doi: 10.1186/s13100-020-00213-z.
30. Anwar, S. L., Wulaningsih, W., and Lehmann, U. (2017) Transposable elements in human cancer: causes and consequences of deregulation, *Int. J. Mol. Sci.*, **18**, 974, doi: 10.3390/ijms18050974.
31. Huang, C. R., Burns, K. H., and Boeke, J. D. (2012) Active transposition in genomes, *Annu. Rev. Genet.*, **46**, 651-675, doi: 10.1146/annurev-genet-110711-155616.
32. Lomberk, G., Wallrath, L., and Urrutia, R. (2006) The heterochromatin protein 1 family, *Genome Biol.*, **7**, 228, doi: 10.1186/gb-2006-7-7-228.
33. Lyko, F. (2018) The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation, *Nat. Rev. Genet.*, **19**, 81-92, doi: 10.1038/nrg.2017.80.
34. Ecco, G., Cassano, M., Kauzlaric, A., Duc, J., Coluccio, A., Offner, S., Imbeault, M., Rowe, H. M., Turelli, P., and Trono, D. (2016) Transposable elements and their KRAB-ZFP controllers regulate gene expression in adult tissues, *Dev. Cell*, **36**, 611-623, doi: 10.1016/j.devcel.2016.02.024.
35. Yang, P., Wang, Y., and Macfarlan, T. S. (2017) The role of KRAB-ZFPs in transposable element repression and mammalian evolution, *Trends Genet.*, **33**, 871-881, doi: 10.1016/j.tig.2017.08.006.
36. Czech, B., Munafo, M., Ciabrelli, F., Eastwood, E. L., Fabry, M. H., Kneuss, E., and Hannon, G. J. (2018) piRNA-guided genome defense: from biogenesis to silencing, *Annu. Rev. Genet.*, **52**, 131-157, doi: 10.1146/annurev-genet-120417-031441.
37. Ozata, D. M., Gainetdinov, I., Zoch, A., O'Carroll, D., and Zamore, P. D. (2019) PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions, *Nat. Rev. Genet.*, **20**, 89-108, doi: 10.1038/s41576-018-0073-3.
38. Andreev, V. I., Yu, C., Wang, J., Schnabl, J., Tirian, L., Gehre, M., Handler, D., Duchek, P., Novatchkova, M., Baumgartner, L., Meixner, K., Sienski, G., Patel, D. J., and Brennecke, J. (2022) Panoramix SUMOylation on chromatin connects the piRNA pathway to the cellular heterochromatin machinery, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **29**, 130-142, doi: 10.1038/s41594-022-00721-x.
39. Brennecke, J., Aravin, A. A., Stark, A., Dus, M., Kellis, M., Sachidanandam, R., and Hannon, G. J. (2007) Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*, *Cell*, **128**, 1089-1103, doi: 10.1016/j.cell.2007.01.043.
40. Aravin, A., Gaidatzis, D., Pfeffer, S., Lagos-Quintana, M., Landgraf, P., Iovino, N., Morris, P., Brownstein, M. J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Chien, M., Russo, J. J., Ju, J., Sheridan, R., Sander, C., Zavolan, M., and Tuschl, T. (2006) A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes, *Nature*, **442**, 203-207, doi: 10.1038/nature04916.
41. Sarot, E., Payen-Groschene, G., Bucheton, A., and Pelisson, A. (2004) Evidence for a piwi-dependent RNA silencing of the gypsy endogenous retrovirus by the *Drosophila melanogaster* flamenco gene, *Genetics*, **166**, 1313-1321, doi: 10.1534/genetics.166.3.1313.
42. Aguiar, E., de Almeida, J. P. P., Queiroz, L. R., Oliveira, L. S., Olmo, R. P., de Faria, I., Imler, J. L., Gruber, A., Matthews, B. J., and Marques, J. T. (2020) A single unidirectional piRNA cluster similar to the *flamenco* locus is the major source of EVE-derived transcription and small RNAs in *Aedes aegypti* mosquitoes, *RNA*, **26**, 581-594, doi: 10.1261/rna.073965.119.
43. Rozhkov, N. V., Zelentsova, E. S., Shostak, N. G., and Evgen'ev, M. B. (2011) Expression of *Drosophila virilis* retroelements and role of small RNAs in their intrastrain transposition, *PLoS One*, **6**, e21883, doi: 10.1371/journal.pone.0021883.
44. Van Lopik, J., Alizada, A., Trapotsi, M. A., Hannon, G. J., Bornelöv, S., and Czech Nicholson, B. (2023) Unistrand piRNA clusters are an evolutionarily conserved mechanism to suppress endogenous retroviruses across the *Drosophila* genus, *Nat Commun.*, **14**, 7337, doi: 10.1038/s41467-023-42787-1.
45. Aravin, A. A., Sachidanandam, R., Bourc'his, D., Schaefer, C., Pezic, D., Toth, K. F., Bestor, T., and Hannon, G. J. (2008) A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice, *Mol. Cell*, **31**, 785-799, doi: 10.1016/j.molcel.2008.09.003.
46. Andersen, P. R., Tirian, L., Vunjak, M., and Brennecke, J. (2017) A heterochromatin-dependent transcription machinery drives piRNA expression, *Nature*, **549**, 54-59, doi: 10.1038/nature23482.
47. Sato, K., and Siomi, M. C. (2020) The piRNA pathway in *Drosophila* ovarian germ and somatic cells, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, **96**, 32-42, doi: 10.2183/pjab.96.003.
48. Khurana, J. S., Wang, J., Xu, J., Koppetsch, B. S., Thomson, T. C., Nowosielska, A., Li, C., Zamore, P. D., Weng, Z., and Theurkauf, W. E. (2011) Adaptation to P element transposon invasion in *Drosophila melanogaster*, *Cell*, **147**, 1551-1563, doi: 10.1016/j.cell.2011.11.042.
49. Shpiz, S., Ryazansky, S., Olovnikov, I., Abramov, Y., and Kalmykova, A. (2014) Euchromatic transposon insertions trigger production of novel Pi- and endo-siRNAs at the target sites in the *Drosophila* germline, *PLoS Genet.*, **10**, e1004138, doi: 10.1371/journal.pgen.1004138.
50. Speck, M. (2001) Antisense promoter of human L1 retrotransposon drives transcription of adjacent cellular genes, *Mol. Cell. Biol.*, **21**, 1973-1985, doi: 10.1128/MCB.21.6.1973-1985.2001.
51. Yang, N., and Kazazian, H. H., Jr. (2006) L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **13**, 763-771, doi: 10.1038/nsmb1141.

52. Komarov, P. A., Sokolova, O., Akulenko, N., Brasslet, E., Jensen, S., and Kalmykova, A. (2020) Epigenetic requirements for triggering heterochromatinization and Piwi-interacting RNA production from transgenes in the *Drosophila* germline, *Cells*, **9**, 922, doi: 10.3390/cells9040922.
53. De Vanssay, A., Bouge, A. L., Boivin, A., Hermant, C., Teyssset, L., Delmarre, V., Antoniewski, C., and Ronsseray, S. (2012) Paramutation in *Drosophila* linked to emergence of a piRNA-producing locus, *Nature*, **490**, 112-115, doi: 10.1038/nature11416.
54. Josse, T., Teyssset, L., Todeschini, A. L., Sidor, C. M., Anxolabehere, D., and Ronsseray, S. (2007) Telomeric trans-silencing: an epigenetic repression combining RNA silencing and heterochromatin formation, *PLoS Genet.*, **3**, 1633-1643, doi: 10.1371/journal.pgen.0030158.
55. Muerdter, F., Olovnikov, I., Molaro, A., Rozhkov, N. V., Czech, B., Gordon, A., Hannon, G. J., and Aravin, A. A. (2012) Production of artificial piRNAs in flies and mice, *RNA*, **18**, 42-52, doi: 10.1261/rna.029769.111.
56. Akulenko, N., Ryazansky, S., Morgunova, V., Komarov, P. A., Olovnikov, I., Vaury, C., Jensen, S., and Kalmykova, A. (2018) Transcriptional and chromatin changes accompanying de novo formation of transgenic piRNA clusters, *RNA*, **24**, 574-584, doi: 10.1261/rna.062851.117.
57. Olovnikov, I., Ryazansky, S., Shpiz, S., Lavrov, S., Abramov, Y., Vaury, C., Jensen, S., and Kalmykova, A. (2013) De novo piRNA cluster formation in the *Drosophila* germ line triggered by transgenes containing a transcribed transposon fragment, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 5757-5768, doi: 10.1093/nar/gkt310.
58. Gebert, D., Neubert, L. K., Lloyd, C., Gui, J., Lehmann, R., and Teixeira, F. K. (2021) Large *Drosophila* germline piRNA clusters are evolutionarily labile and dispensable for transposon regulation, *Mol. Cell*, **81**, 3965-3978, doi: 10.1016/j.molcel.2021.07.011.
59. Brennecke, J., Malone, C. D., Aravin, A. A., Sachidanandam, R., Stark, A., and Hannon, G. J. (2008) An epigenetic role for maternally inherited piRNAs in transposon silencing, *Science*, **322**, 1387-1392, doi: 10.1126/science.1165171.
60. Blumenstiel, J. P. (2019) Birth, school, work, death, and resurrection: the life stages and dynamics of transposable element proliferation, *Genes (Basel)*, **10**, 336, doi: 10.3390/genes10050336.
61. Wallau, G. L., Vieira, C., and Loreto, E. L. S. (2018) Genetic exchange in eukaryotes through horizontal transfer: connected by the mobilome, *Mob. DNA*, **9**, 6, doi: 10.1186/s13100-018-0112-9.
62. Jensen, S., Gassama, M. P., and Heidmann, T. (1999) Taming of transposable elements by homology-dependent gene silencing, *Nat. Genet.*, **21**, 209-212, doi: 10.1038/5997.
63. Kordyukova, M., Sokolova, O., Morgunova, V., Ryazansky, S., Akulenko, N., Glukhov, S., and Kalmykova, A. (2020) Nuclear Ccr4-Not mediates the degradation of telomeric and transposon transcripts at chromatin in the *Drosophila* germline, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 141-156, doi: 10.1093/nar/gkz1072.
64. Collart, M. A., and Panasenko, O. O. (2012) The Ccr4-Not complex, *Gene*, **492**, 42-53, doi: 10.1016/j.gene.2011.09.033.
65. Rozhkov, N. V., Hammell, M., and Hannon, G. J. (2013) Multiple roles for Piwi in silencing *Drosophila* transposons, *Genes Dev.*, **27**, 400-412, doi: 10.1101/gad.209767.112.
66. Shpiz, S., Olovnikov, I., Sergeeva, A., Lavrov, S., Abramov, Y., Savitsky, M., and Kalmykova, A. (2011) Mechanism of the piRNA-mediated silencing of *Drosophila* telomeric retrotransposons, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 8703-8711, doi: 10.1093/nar/gkr552.
67. Sienski, G., Donertas, D., and Brennecke, J. (2012) Transcriptional silencing of transposons by piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression, *Cell*, **151**, 964-980, doi: 10.1016/j.cell.2012.10.040.
68. Akkouche, A., Mugat, B., Barckmann, B., Varela-Chavez, C., Li, B., Raffel, R., Pelisson, A., and Chambeyron, S. (2017) Piwi is required during *Drosophila* embryogenesis to license dual-strand piRNA clusters for transposon repression in adult ovaries, *Mol. Cell*, **66**, 411-419, doi: 10.1016/j.molcel.2017.03.017.
69. Gunawardane, L. S., Saito, K., Nishida, K. M., Miyoshi, K., Kawamura, Y., Nagami, T., Siomi, H., and Siomi, M. C. (2007) A slicer-mediated mechanism for repeat-associated siRNA 5' end formation in *Drosophila*, *Science*, **315**, 1587-1590, doi: 10.1126/science.1140494.
70. Han, B. W., Wang, W., Li, C., Weng, Z., and Zamore, P. D. (2015) Noncoding RNA. piRNA-guided transposon cleavage initiates Zucchini-dependent, phased piRNA production, *Science*, **348**, 817-821, doi: 10.1126/science.aaa1264.
71. Mohn, F., Handler, D., and Brennecke, J. (2015) Non-coding RNA. piRNA-guided slicing specifies transcripts for Zucchini-dependent, phased piRNA biogenesis, *Science*, **348**, 812-817, doi: 10.1126/science.aaa1039.
72. Lewis, S. H., Salmela, H., and Obbard, D. J. (2016) Duplication and diversification of dipteran argonaute genes, and the evolutionary divergence of Piwi and aubergine, *Genome Biol. Evol.*, **8**, 507-518, doi: 10.1093/gbe/evw018.
73. Parhad, S. S., Tu, S., Weng, Z., and Theurkauf, W. E. (2017) Adaptive evolution leads to cross-species incompatibility in the piRNA transposon silencing machinery, *Dev. Cell*, **43**, 60-70 e65, doi: 10.1016/j.devcel.2017.08.012.
74. Vermaak, D., Henikoff, S., and Malik, H. S. (2005) Positive selection drives the evolution of *rhino*, a member of the heterochromatin protein 1 family

- in *Drosophila*, *PLoS Genet.*, **1**, 96-108, doi: 10.1371/journal.pgen.0010009.
75. Savitsky, M., Kwon, D., Georgiev, P., Kalmykova, A., and Gvozdev, V. (2006) Telomere elongation is under the control of the RNAi-based mechanism in the *Drosophila* germline, *Genes Dev.*, **20**, 345-354, doi: 10.1101/gad.370206.
 76. Danilevskaia, O. N., Traverse, K. L., Hogan, N. C., DeBaryshe, P. G., and Pardue, M. L. (1999) The two *Drosophila* telomeric transposable elements have very different patterns of transcription, *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 873-881, doi: 10.1128/MCB.19.1.873.
 77. Maxwell, P. H., Belote, J. M., and Levis, R. W. (2006) Identification of multiple transcription initiation, polyadenylation, and splice sites in the *Drosophila melanogaster* TART family of telomeric retrotransposons, *Nucleic Acids Res.*, **34**, 5498-5507, doi: 10.1093/nar/gkl709.
 78. Radion, E., Ryazansky, S., Akulenko, N., Rozovsky, Y., Kwon, D., Morgunova, V., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2017) Telomeric retrotransposon *HeT-A* contains a bidirectional promoter that initiates divergent transcription of piRNA precursors in *Drosophila* germline, *J. Mol. Biol.*, **429**, 3280-3289, doi: 10.1016/j.jmb.2016.12.002.
 79. Shpiz, S., Kwon, D., Rozovsky, Y., and Kalmykova, A. (2009) rasiRNA pathway controls antisense expression of *Drosophila* telomeric retrotransposons in the nucleus, *Nucleic Acids Res.*, **37**, 268-278, doi: 10.1093/nar/gkn960.
 80. Tatsuke, T., Sakashita, K., Masaki, Y., Lee, J. M., Kawaguchi, Y., and Kusakabe, T. (2010) The telomere-specific non-LTR retrotransposons SART1 and TRAS1 are suppressed by Piwi subfamily proteins in the silkworm, *Bombyx mori*, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **15**, 118-133, doi: 10.2478/s11658-009-0038-9.
 81. Radion, E., Morgunova, V., Ryazansky, S., Akulenko, N., Lavrov, S., Abramov, Y., Komarov, P. A., Glukhov, S. I., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2018) Key role of piRNAs in telomeric chromatin maintenance and telomere nuclear positioning in *Drosophila* germline, *Epigenetics Chromatin*, **11**, 40, doi: 10.1186/s13072-018-0210-4.
 82. Wagner, E., Clement, S. L., and Lykke-Andersen, J. (2007) An unconventional human Ccr4-Caf1 deadenylase complex in nuclear Cajal bodies, *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 1686-1695, doi: 10.1128/MCB.01483-06.
 83. Ryazansky, S., Radion, E., Mironova, A., Akulenko, N., Abramov, Y., Morgunova, V., Kordyukova, M. Y., Olovnikov, I., and Kalmykova, A. (2017) Natural variation of piRNA expression affects immunity to transposable elements, *PLoS Genet.*, **13**, e1006731, doi: 10.1371/journal.pgen.1006731.
 84. Maupetit-Mehouas, S., and Vauray, C. (2020) Transposon reactivation in the germline may be useful for both transposons and their host genomes, *Cells*, **9**, 1172, doi: 10.3390/cells9051172.
 85. Dufourt, J., Dennis, C., Boivin, A., Gueguen, N., Theron, E., Goriaux, C., Pouchin, P., Ronsseray, S., Brasset, E., and Vauray, C. (2014) Spatio-temporal requirements for transposable element piRNA-mediated silencing during *Drosophila* oogenesis, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 2512-2524, doi: 10.1093/nar/gkt1184.
 86. Theron, E., Maupetit-Mehouas, S., Pouchin, P., Baudet, L., Brasset, E., and Vauray, C. (2018) The interplay between the Argonaute proteins Piwi and Aub within *Drosophila* germline is critical for oogenesis, piRNA biogenesis and TE silencing, *Nucleic acids Res.*, **46**, 10052-10065, doi: 10.1093/nar/gky695.
 87. Kordyukova, M., Morgunova, V., Olovnikov, I., Komarov, P. A., Mironova, A., Olenkina, O. M., and Kalmykova, A. (2018) Subcellular localization and Egl-mediated transport of telomeric retrotransposon *HeT-A* ribonucleoprotein particles in the *Drosophila* germline and early embryogenesis, *PLoS One*, **13**, e0201787, doi: 10.1371/journal.pone.0201787.
 88. Sokolova, O., Morgunova, V., Sizova, T. V., Komarov, P. A., Olenkina, O. M., Babaev, D. S., Mikhaleva, E. A., Kwon, D. A., Erokhin, M., and Kalmykova, A. (2023) The insulator BEAF32 controls the spatial-temporal expression profile of the telomeric retrotransposon *TART* in the *Drosophila* germline, *Development*, **150**, dev201678, doi: 10.1242/dev.201678.
 89. Zhang, L., Beaucher, M., Cheng, Y., and Rong, Y. S. (2014) Coordination of transposon expression with DNA replication in the targeting of telomeric retrotransposons in *Drosophila*, *EMBO J.*, **33**, 1148-1158, doi: 10.1002/embj.201386940.
 90. Rashkova, S., Karam, S. E., Kellum, R., and Pardue, M. L. (2002) Gag proteins of the two *Drosophila* telomeric retrotransposons are targeted to chromosome ends, *J. Cell Biol.*, **159**, 397-402, doi: 10.1083/jcb.200205039.
 91. Lopez-Panades, E., Gavis, E. R., and Casacuberta, E. (2015) Specific localization of the *Drosophila* telomere transposon proteins and RNAs, give insight in their behavior, control and telomere biology in this organism, *PLoS One*, **10**, e0128573, doi: 10.1371/journal.pone.0128573.
 92. Lepesant, J. M. J., Iampietro, C., Galeota, E., Auge, B., Aguirrenbengoa, M., Merce, C., Chaubet, C., Rocher, V., Haenlin, M., Waltzer, L., Pelizzola, M., and Di Stefano, L. (2020) A dual role of dLsd1 in oogenesis: regulating developmental genes and repressing transposons, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 1206-1224, doi: 10.1093/nar/gkz1142.
 93. Yang, F., Quan, Z., Huang, H., He, M., Liu, X., Cai, T., and Xi, R. (2019) Ovaries absent links dLsd1 to HP1a for local H3K4 demethylation required for heterochromatic gene silencing, *Elife*, **8**, e40806, doi: 10.7554/eLife.40806.
 94. Sienski, G., Batki, J., Senti, K. A., Donertas, D., Tirian, L., Meixner, K., and Brennecke, J. (2015) Silencio/CG9754 connects the Piwi-piRNA complex

- to the cellular heterochromatin machinery, *Genes Dev.*, **29**, 2258-2271, doi: 10.1101/gad.271908.115.
95. Penke, T. J., McKay, D. J., Strahl, B. D., Matera, A. G., and Duronio, R. J. (2016) Direct interrogation of the role of H3K9 in metazoan heterochromatin function, *Genes Dev.*, **30**, 1866-1880, doi: 10.1101/gad.286278.116.
 96. Teo, R. Y. W., Anand, A., Sridhar, V., Okamura, K., and Kai, T. (2018) Heterochromatin protein 1a functions for piRNA biogenesis predominantly from pericentric and telomeric regions in *Drosophila*, *Nat. Commun.*, **9**, 1735, doi: 10.1038/s41467-018-03908-3.
 97. Wang, S. H., and Elgin, S. C. (2011) *Drosophila* Piwi functions downstream of piRNA production mediating a chromatin-based transposon silencing mechanism in female germ line, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 21164-21169, doi: 10.1073/pnas.1107892109.
 98. Savitsky, M., Kravchuk, O., Melnikova, L., and Georgiev, P. (2002) Heterochromatin protein 1 is involved in control of telomere elongation in *Drosophila melanogaster*, *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 3204-3218, doi: 10.1128/MCB.22.9.3204-3218.2002.
 99. Molaro, A., Falcatori, I., Hodges, E., Aravin, A. A., Marran, K., Rafii, S., McCombie, W. R., Smith, A. D., and Hannon, G. J. (2014) Two waves of de novo methylation during mouse germ cell development, *Genes Dev.*, **28**, 1544-1549, doi: 10.1101/gad.244350.114.
 100. Zoch, A., Auchynnikava, T., Berrens, R. V., Kabayama, Y., Schopp, T., Heep, M., Vasiliauskaite, L., Perez-Rico, Y. A., Cook, A. G., Shkumatava, A., Rappsilber, J., Allshire, R. C., and O'Carroll, D. (2020) SPOCD1 is an essential executor of piRNA-directed *de novo* DNA methylation, *Nature*, **584**, 635-639, doi: 10.1038/s41586-020-2557-5.
 101. Zeng, Y., and Chen, T. (2019) DNA methylation reprogramming during mammalian development, *Genes (Basel)*, **10**, 257, doi: 10.3390/genes10040257.
 102. Shirane, K., Kurimoto, K., Yabuta, Y., Yamaji, M., Satoh, J., Ito, S., Watanabe, A., Hayashi, K., Saitou, M., and Sasaki, H. (2016) Global landscape and regulatory principles of DNA methylation reprogramming for germ cell specification by mouse pluripotent stem cells, *Dev. Cell*, **39**, 87-103, doi: 10.1016/j.devcel.2016.08.008.
 103. Kohlrausch, F. B., Berteli, T. S., Wang, F., Navarro, P. A., and Keefe, D. L. (2022) Control of LINE-1 expression maintains genome integrity in germline and early embryo development, *Reprod. Sci.*, **29**, 328-340, doi: 10.1007/s43032-021-00461-1.
 104. Akiyama, T., Xin, L., Oda, M., Sharov, A. A., Amano, M., Piao, Y., Cadet, J. S., Dudekula, D. B., Qian, Y., Wang, W., Ko, S. B., and Ko, M. S. (2015) Transient bursts of Zscan4 expression are accompanied by the rapid derepression of heterochromatin in mouse embryonic stem cells, *DNA Res.*, **22**, 307-318, doi: 10.1093/dnares/dsv013.
 105. Dan, J., Rousseau, P., Hardikar, S., Veland, N., Wong, J., Autexier, C., and Chen, T. (2017) Zscan4 inhibits maintenance DNA methylation to facilitate telomere elongation in mouse embryonic stem cells, *Cell Rep.*, **20**, 1936-1949, doi: 10.1016/j.celrep.2017.07.070.
 106. Zalzman, M., Falco, G., Sharova, L. V., Nishiyama, A., Thomas, M., Lee, S. L., Stagg, C. A., Hoang, H. G., Yang, H. T., Indig, F. E., Wersto, R. P., and Ko, M. S. (2010) Zscan4 regulates telomere elongation and genomic stability in ES cells, *Nature*, **464**, 858-863, doi: 10.1038/nature08882.
 107. Thool, M., Sundaravadivelu, P. K., Sudhagar, S., and Thummer, R. P. (2022) A comprehensive review on the role of ZSCAN4 in embryonic development, stem cells, and cancer, *Stem Cell Rev. Rep.*, **18**, 2740-2756, doi: 10.1007/s12015-022-10412-1.
 108. Dan, J., Zhou, Z., Wang, F., Wang, H., Guo, R., Keefe, D. L., and Liu, L. (2022) Zscan4 contributes to telomere maintenance in telomerase-deficient late generation mouse ESCs and human ALT cancer cells, *Cells*, **11**, 456, doi: 10.3390/cells11030456.
 109. Peaston, A. E., Evsikov, A. V., Graber, J. H., de Vries, W. N., Holbrook, A. E., Solter, D., and Knowles, B. B. (2004) Retrotransposons regulate host genes in mouse oocytes and preimplantation embryos, *Dev. Cell.*, **7**, 597-606, doi: 10.1016/j.devcel.2004.09.004.
 110. Kigami, D., Minami, N., Takayama, H., and Imai, H. (2003) MuERV-L is one of the earliest transcribed genes in mouse one-cell embryos, *Biol. Reprod.*, **68**, 651-654, doi: 10.1095/biolreprod.102.007906.
 111. Fadloun, A., Le Gras, S., Jost, B., Ziegler-Birling, C., Takahashi, H., Gorab, E., Carninci, P., and Torres-Padilla, M. E. (2013) Chromatin signatures and retrotransposon profiling in mouse embryos reveal regulation of LINE-1 by RNA, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **20**, 332-338, doi: 10.1038/nsmb.2495.
 112. Eckersley-Maslin, M. A., Svensson, V., Krueger, C., Stubbs, T. M., Giehr, P., Krueger, F., Miragaia, R. J., Kyriakopoulos, C., Berrens, R. V., Milagre, I., Walter, J., Teichmann, S. A., and Reik, W. (2016) MERVL/Zscan4 network activation results in transient genome-wide DNA demethylation of mESCs, *Cell Rep.*, **17**, 179-192, doi: 10.1016/j.celrep.2016.08.087.
 113. Wang, F., Chamani, I. J., Luo, D., Chan, K., Navarro, P. A., and Keefe, D. L. (2021) Inhibition of LINE-1 retrotransposition represses telomere reprogramming during mouse 2-cell embryo development, *J. Assist. Reprod. Genet.*, **38**, 3145-3153, doi: 10.1007/s10815-021-02331-w.
 114. Percharde, M., Lin, C. J., Yin, Y., Guan, J., Peixoto, G. A., Bulut-Karslioglu, A., Biechele, S., Huang, B., Shen, X., and Ramalho-Santos, M. (2018) A LINE1-nucleolin partnership regulates early development and ESC identity, *Cell*, **174**, 391-405, doi: 10.1016/j.cell.2018.05.043.
 115. Macfarlan, T. S., Gifford, W. D., Driscoll, S., Lettieri, K., Rowe, H. M., Bonanomi, D., Firth, A.,

- Singer, O., Trono, D., and Pfaff, S. L. (2012) Embryonic stem cell potency fluctuates with endogenous retrovirus activity, *Nature*, **487**, 57-63, doi: 10.1038/nature11244.
116. Ghosh, S., and Zhou, Z. (2014) Genetics of aging, progeria and lamin disorders, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **26**, 41-46, doi: 10.1016/j.gde.2014.05.003.
117. Gorbunova, V., Seluanov, A., Mita, P., McKerrow, W., Fenyó, D., Boeke, J. D., Linker, S. B., Gage, F. H., Kreiling, J. A., Petrashen, A. P., Woodham, T. A., Taylor, J. R., Helfand, S. L., and Sedivy, J. M. (2021) The role of retrotransposable elements in ageing and age-associated diseases, *Nature*, **596**, 43-53, doi: 10.1038/s41586-021-03542-y.
118. Aschacher, T., Wolf, B., Enzmann, F., Kienzl, P., Messner, B., Sampl, S., Svoboda, M., Mechtcheriakova, D., Holzmann, K., and Bergmann, M. (2016) LINE-1 induces hTERT and ensures telomere maintenance in tumour cell lines, *Oncogene*, **35**, 94-104, doi: 10.1038/onc.2015.65.
119. Aschacher, T., Wolf, B., Aschacher, O., Enzmann, F., Laszlo, V., Messner, B., Turkcan, A., Weis, S., Spiegl-Kreinecker, S., Holzmann, K., Laufer, G., Ehrlich, M., and Bergmann, M. (2020) Long interspersed element-1 ribonucleoprotein particles protect telomeric ends in alternative lengthening of telomeres dependent cells, *Neoplasia*, **22**, 61-75, doi: 10.1016/j.neo.2019.11.002.
120. Cosby, R. L., Chang, N. C., and Feschotte, C. (2019) Host-transposon interactions: conflict, cooperation, and cooption, *Genes Dev.*, **33**, 1098-1116, doi: 10.1101/gad.327312.119.
121. Charlesworth, B., and Langley, C. H. (1989) The population genetics of *Drosophila* transposable elements, *Annu. Rev. Genet.*, **23**, 251-287, doi: 10.1146/annurev.ge.23.120189.001343.
122. Kelleher, E. S., and Barbash, D. A. (2013) Analysis of piRNA-mediated silencing of active TEs in *Drosophila melanogaster* suggests limits on the evolution of host genome defense, *Mol. Biol. Evol.*, **30**, 1816-1829, doi: 10.1093/molbev/mst081.

RETROTRANSPOSONS AND TELOMERES

Review

A. I. Kalmykova* and O. A. Sokolova

*Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russia; e-mail: allakalm@idbras.ru*

Transposable elements (TEs) comprise a significant part of eukaryotic genomes being a major source of genome instability and mutagenesis. Cellular defense systems suppress the TE expansion at all stages of their life cycle. Piwi proteins and Piwi-interacting RNAs (piRNAs) are key elements of the anti-transposon defense system, which control TE activity in metazoan gonads preventing inheritable transpositions and developmental defects. In this review, we discuss various regulatory mechanisms by which small RNAs combat TE activity. However, active transposons persist, suggesting these powerful anti-transposon defense mechanisms have a limited capacity. A growing body of evidence suggests that increased TE activity coincides with genome reprogramming and telomere lengthening in different species. In the *Drosophila* fruit fly, whose telomeres consist only of retrotransposons, a piRNA-mediated mechanism is required for telomere maintenance and their length control. Therefore, the efficacy of protective mechanisms must be finely balanced in order not only to suppress the activity of transposons, but also to maintain the proper length and stability of telomeres. Structural and functional relationship between the telomere homeostasis and LINE1 retrotransposon in human cells indicates a close link between selfish TEs and the vital structure of the genome, telomeres. This relationship, which permits the retention of active TEs in the genome, is reportedly a legacy of the retrotransposon origin of telomeres. The maintenance of telomeres and the execution of other crucial roles that TEs acquired during the process of their domestication in the genome serve as a type of payment for such a “service.”

Keywords: retrotransposons, telomeres, telomerase, polyploidy, Piwi, piRNA, germline, chromatin, LINE1, *Drosophila*

МОБИЛЬНЫЕ И НЕМОБИЛЬНЫЕ: МНОГООБРАЗИЕ ОБРАТНЫХ ТРАНСКРИПТАЗ И ИХ РЕКРУТИРОВАНИЕ ГЕНОМНОМ ХОЗЯИНА

Обзор

© 2023 И.Р. Архипова*, И.А. Юшенова

*Josephine Bay Paul Center for Comparative Molecular Biology and Evolution, Marine Biological Laboratory,
Woods Hole, MA 02543 USA; e-mail: iarkhipova@mbl.edu, iyushenova@mbl.edu*

Поступила в редакцию 13.09.2023

После доработки 18.09.2023

Принята к публикации 20.09.2023

Обратные транскриптазы (reverse transcriptase, RT), или РНК-зависимые ДНК-полимеразы — это необычные ферменты, которые впервые дали возможность пересмотреть общепринятое представление об однонаправленном потоке генетической информации в клетке от ДНК к РНК и белку. RT были впервые обнаружены в ретровирусах позвоночных, а впоследствии — повторно обнаружены у большинства эукариот, бактерий и архей (что, по сути, охватывает все надцарства живых организмов). В ретровирусах RT обеспечивают возможность копировать РНК-геном в ДНК для последующего включения в геном хозяина, что важно для репликации и выживания. В клеточных организмах большинство последовательностей RT происходит от ретротранспозонов — типа самореплицирующихся генетических элементов, которые полагаются на обратную транскрипцию для копирования и вставки своих последовательностей в новые места генома. Однако некоторые ретроэлементы могут быть «одомашнены» и в конечном итоге стать ценным дополнением к общему репертуару клеточных ферментов. Они могут быть полезными и при этом либо вспомогательными — например, как элементы, генерирующие разнообразие (diversity-generating elements) — либо даже незаменимыми, как теломеразные RT. В настоящее время обнаруживают всё большее количество «одомашненных» генетических элементов, несущих гены RT. Можно утверждать, что «одомашненные» RT и обратная транскрипция в целом более широко распространены в клеточных организмах, чем считалось ранее, и что многие важные клеточные функции, такие как поддержание стабильности концов хромосом, могли возникнуть из изначально «эгоистичного» процесса преобразования РНК в ДНК.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: обратная транскрипция, РНК-зависимая ДНК-полимераза, теломеразная обратная транскриптаза.

DOI: 10.31857/S0320972523110088, **EDN:** MLIDVY

ВВЕДЕНИЕ

На заре молекулярной биологии, когда ещё мало что было известно о молекулярной природе биологических явлений, авторы многочисленных теоретических работ пытались предвидеть будущие открытия и обоснованно предсказать молекулярные механизмы, объясняющие фундаментальные генетические принципы. Примечательно, что лишь относительно малая часть таких работ выдержала испытание временем и экспериментальную проверку, последовавшую в предстоящие годы. Среди

таких дальновидных работ заслуженное место занимает теоретическое предсказание Алексея Оловникова о недорепликации концов ДНК в линейных хромосомах и существовании специализированного фермента, способного решить эту проблему [1, 2]. Хотя одновременно открытие проблемы репликации концов ДНК было также сделано в статье Джеймса Уотсона [3], внимание в ней было уделено в основном фаговой ДНК, не указывалось на необходимость специализированной полимеразы, а вместо этого акцент был смещён на нуклеазы, процессирующие концы ДНК.

Принятые сокращения: RT — reverse transcriptase, обратная транскриптаза.

* Адресат для корреспонденции.

За открытие теломеразы – специализированной полимеразы, которая может добавлять простые повторяющиеся последовательности к концам линейных хромосом, чтобы компенсировать потерю концевой ДНК после каждого цикла репликации – была присуждена Нобелевская премия, но путь к нему был долгим и непростым. В первоначальном сообщении Грейдер и Блэкберн найденный в *Tetrahymena* фермент обозначался как концевая трансфераза [4], поскольку его обнаруженная активность заключалась в добавлении tandemных повторов к теломерным праймерам без очевидной матрицы. Однако впоследствии соответствующая матричная РНК была выявлена как неотъемлемый компонент рибонуклеопротеинового холофермента, что послужило экспериментальным доказательством РНК-зависимого синтеза ДНК [5], хотя по-прежнему считалось, что классифицировать теломеразный фермент как настоящую обратную транскриптазу преждевременно.

Процесс синтеза ДНК с использованием РНК в качестве матрицы в целом обозначается термином «обратная транскрипция», а соответствующий фермент, способный осуществлять эту реакцию, носит название «обратная транскриптаза» (reverse transcriptase, RT), также известная как «ревертаза» в русскоязычной литературе. Его экспериментальному открытию Теминым и Балтимором более 50 лет назад [6, 7] (которое также было отмечено Нобелевской премией) аналогичным образом предшествовала концепция синтеза ДНК на матрице вирусной ДНК Говарда Темина, известная как «гипотеза провируса» [8]. Мало кто догадывался, что, помимо открытия обратного потока генетической информации от вирусной РНК к ДНК, этой гипотезой также были созданы предпосылки для открытия самореплицирующихся подвижных генетических элементов и для последующего осознания того, что некоторые дополнительные или даже незаменимые функции клетки-хозяина

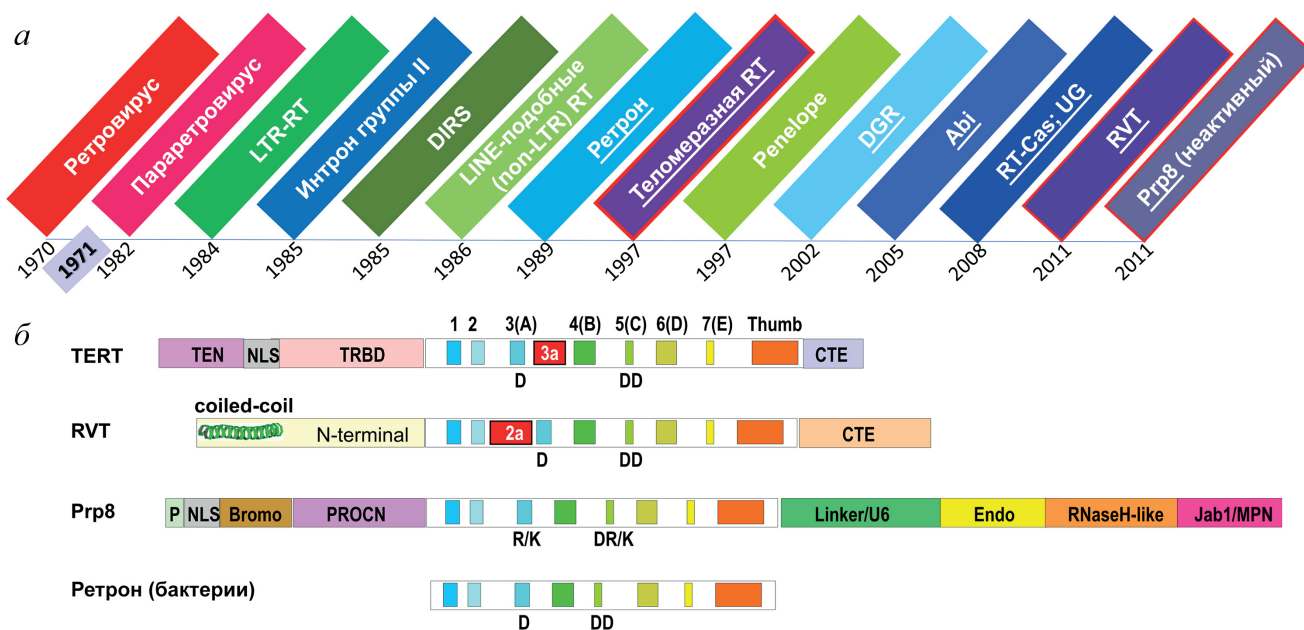


Рис. 1. Основные типы обратных транскриптаз (RT) из трёх надцарств живых организмов. *a* – Хронология открытия RT. Основные типы RT, описанные в тексте, показаны следующими цветами: вирусные RT – оттенки красного; RT эукариотических мобильных элементов – оттенки зелёного; прокариотические RT – оттенки синего; «одомашненные» эукариотические RT – оттенки фиолетового. «Одомашненные» RT подчёркнуты. Годы соответствуют первым сообщениям о выявлении гомологии с каталитическим ядром RT. В 1971 г. впервые была обозначена проблема неполной репликации концов хромосом [1]. *б* – Примеры структурной организации «одомашненных» эукариотических RT. Бактериальные ретроны включены для сравнения. Расположенное в центре каталитическое ядро RT представлено семью консервативными мотивами, разделёнными спейсерами переменной длины с характерными длинными петлями 2a и 3a (также называемая IFD), которые отмечены красным. Указаны аминокислотные остатки каталитической триады D..DD и их некаталитические замены. Дополнительные домены по обе стороны от ядра RT и «большого пальца»: TEN – незаменимый N-концевой домен теломеразы (telomerase essential N-terminal domain); TRBD – теломеразный РНК-связывающий домен (telomerase RNA binding domain); CTE – C-концевое удлинение (C-terminal extension); P – полипролиновый участок (polyproline stretch); NLS – сигнал ядерной локализации (nuclear localization signal); Bromo – бромодомен; PROCN – центральный домен PRO8 (PRO8 central domain); Endo – эндонуклеазоподобный домен (endonuclease-like); Jab1/MPN – предполагаемый деубиквитиназоподобный домен. Масштаб приблизительный. Доменная структура представлена по различным литературным источникам [55, 57, 59].

могут взять на себя потомки таких мобильных элементов. Примечательно, что RT были обнаружены примерно в то же время, когда была впервые выявлена проблема неполной репликации концов хромосом (рис. 1).

РАЗВИТИЕ ПОДХОДОВ К ВЫЯВЛЕНИЮ РЕТРОЭЛЕМЕНТОВ

С момента открытия RT в ретровирусах представление об их разнообразии необычайно расширилось: от представления о них как о чисто вирусных компонентах до открытия их удивительно разнообразных структурных и функциональных ролей у эукариотических и прокариотических хозяев (рис. 1, а). Ранние достижения в области вирусологии привели к дальнейшему открытию обратной транскрипции в репликативных циклах гепаднавирусов и каулимовирусов (совместно названных параретровирусами [9]) – этому способствовала доступность методов выделения вирусов и биохимического анализа RT. Вскоре после этого перспективы новых открытий сместились к обнаружению гомологии последовательностей. Этот процесс ускорило появление технологий секвенирования и знаковое открытие общих мотивов аминокислотных последовательностей в каталитическом ядре ДНК-полимераз вирусов, осуществляющих обратную транскрипцию [10]. Вскоре после этого неотъемлемой частью идентификации новых RT стал поиск остатков аспартата, образующих каталитическую триаду D..DD в активном центре RT. На представленной временной шкале изучения RT (рис. 1, а) основополагающим работам, в которых были впервые выявлены характерные остатки RT, был присвоен приоритет по сравнению с теми, в которых сообщалось о первоначальном биохимическом обнаружении РНК-зависимой полимеризации ДНК. Это связано с тем, что полноценное экспериментальное подтверждение активности RT непременно должно включать в себя сайт-направленный мутагенез остатков активного центра, присутствующих в двух из семи консервативных мотивов, формирующих каталитическое ядро RT (рис. 1, б).

Первая половина временной шкалы, до 1990-х гг., представлена в основном открытиями RT в различных типах вирусов и мобильных генетических элементах. Действительно, мультикопийные мобильные элементы были одними из первых компонентов эукариотических геномов, клонированных на молекулярном уровне [11, 12], наряду с другими ак-

тивно транскрибируемыми мультикопийными генами, такими как повторяющиеся единицы рибосомальной ДНК или кластеры генов гистонов [13, 14]. Общее структурное сходство LTR-ретротранспозонов и ретровирусов сразу же стало очевидным при их клонировании из дрожифилы и дрожжей [15]. Однако окончательное доказательство их близкого родства с ретровирусами было получено в результате анализа их полных нуклеотидных последовательностей, выявившего их способность кодировать фермент RT [16, 17]. Более того, характерные участки гомологии с консервативными мотивами RT вскоре были идентифицированы не только в ретровирусоподобных мобильных элементах, но также и в мобильных интронах митохондрий грибов II группы и других типах мультикопийных эукариотических транспозонов, таких как DIRS и LINE-подобные ретро-транспозоны [18–21]. В конце первых двух десятилетий изучения RT появились первые сообщения об их существовании у бактерий в форме ретронов, мультикопийных внехромосомных химерных молекул ДНК–РНК, связанных через точку ветвления 2'-5' [22, 23].

На следующем этапе в истории открытий новых RT исследователи по-прежнему опирались на обнаружение гомологии последовательностей, но преимущественно обнаруживались RT, присутствующие в меньшем количестве копий, и большинство из них не относилось к мобильным элементам, а представляло собой однокопийные гены клетки-хозяина (рис. 1, а, подчеркнуто). Фактически известный на данный момент спектр эукариотических ретро-транспозонов не расширялся с момента открытия *Penelope*-подобных ретро-элементов (*Penelope*-like elements, PLE) [24]. Первый и наиболее известный случай «одомашнивания» RT у эукариот был выявлен после доказательства того, что подлинную RT представляет собой теломераза. Проведение связи между активностью RT и соответствующим ферментом потребовало много сил и времени, в течение которого происходили и ошибочные определения [25]. Окончательного успеха в определении каталитической субъединицы теломеразы как RT удалось достичь благодаря выявлению консервативных мотивов в домене «пальцев» и «ладони» RT, что подтвердила потеря активности ферментом при направленном мутагенезе трёх инвариантных каталитических остатков аспартата [26]. Таким образом, было обнаружено, что однокопийный ген RT, присутствующий почти у всех видов эукариот, отвечает за важную функцию клетки-хозяина по удлинению концов линейных хромосом

для противодействия потере концевой ДНК из-за недорепликации, или маргинотомии, как этот процесс был исходно назван Оловниковым [27]. В настоящее время новые типы RT выявляются в основном с помощью компьютерного поиска с использованием обширных геномных и метагеномных данных. В следующих разделах мы кратко охарактеризуем RT, принадлежащие к мобильным генетическим элементам, и сравним их с «одомашненными» и, соответственно, немобильными элементами.

ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ МОБИЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ: РЕТРОВИРУСЫ, ПАРАРЕТРОВИРУСЫ, РЕТРОТРАНСПОЗОНЫ

Чтобы понять и сравнить свойства вирусных и мобильных RT, необходимо рассмотреть архитектуру консервативных доменов, кото-

рые встречаются вместе с RT, а также состав соседних генов внутри мобилизуемой единицы (рис. 2). Интересно, что **ретровирусы**, обнаружение которых открыло эру изучения RT, оказались поразительно похожими на **LTR-ретротранспозоны**, открытые более десяти лет позже, по составу генов, организации и циклу репликации, что указывает на общее эволюционное происхождение [16, 17, 28]. RT **гепаднавирусов** можно в целом отнести к основанию вирусной/LTR-ветви эукариотических RT, в представителях которой содержится C-концевой домен РНКазы Н для обеспечения репликации в цитоплазме, что позволяет не нуждаться в ядерных РНКазах Н хозяина для разрушения РНК в ДНК–РНК-гибриде (рис. 2). Ещё более необычными являются **каулимовирусы**, RT которых сходна с таковой у *Metaviridae* (также известных как *Ty3/mdg4(gypsy)*-подобные LTR-ретротранспозоны), так что их происхождение, скорее всего, гибридное —

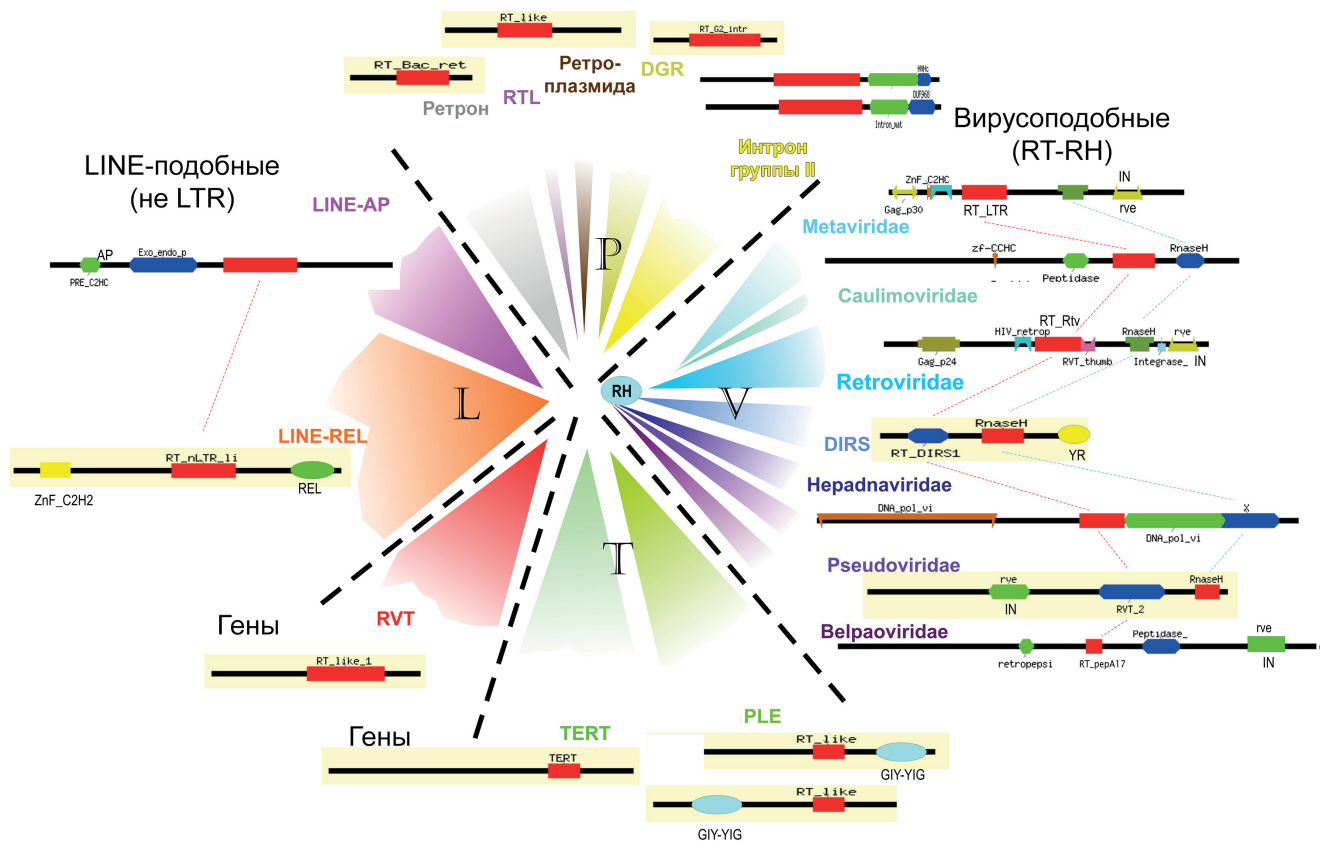


Рис. 2. Доменная архитектура основных типов RT, описанных в тексте. Для каждого типа представлена типичная архитектура, выявленная с помощью CDART (Conserved Domain Architecture Retrieval Tool) в NCBI [63]. Обозначение домена соответствует базе данных консервативных доменов NCBI (CDD) [64]. Цвета определяются CDART динамически, а не фиксированы для каждого домена; для облегчения отслеживания гомологии домены RT и РНКазы Н (RH) соединены пунктирной линией. Расположенные по кругу элементы соответствуют приведённым в центре филогенетическим группам, взятым из работы Gladyshev et al. [55]. Буквы P, V, T и L соответствуют прокариотическим, вирусноподобным, теломеразоподобным и LINE-подобным ретроэлементам; гены *rvt* образуют отдельную группу, пока не имеющую обозначения. Мобильные элементы содержат шесть различных типов ассоциированных нуклеаз/фосфотрансфераз, упомянутых в тексте: IN, AP, REL, YR, GIY-YIG, HNH. Вирусноподобные элементы названы согласно классификации ICTV [29]. «Одомашненные» эукариотические RT (TERT, RVT) обозначены как «Гены»

в результате захвата RT ДНК-вирусом [29]. *Ty1/copia*-подобные LTR-ретротранспозоны (Pseudoviridae) соответствуют общей структуре LTR, но имеют другой порядок доменов. Все ретровирусоподобные элементы, входящие в таксономический порядок *Ortervirales* (Retroviridae, Metaviridae, Pseudoviridae и Belraoviridae) [29], мобилизуются с помощью интегразы (integrase, IN), которая отвечает за встраивание копии кДНК в новые участки хромосом. Отдельная группа элементов под названием **DIRS** мобилизуется с помощью тирозинрекомбиназы (YR) вместо IN.

Ретротранспозоны подкласса LINE (также известные как non-LTR) мобилизуются без образования цитоплазматической промежуточной кДНК: их RT использует механизм обратной транскрипции, праймируемой в сайте интеграции (target-primed reverse transcription, TPRT) для синтеза кДНК непосредственно на сайте интеграции в хромосому, который разрезается одним из двух различных типов ассоциированных эндонуклеаз (EN) – AP-подобной или REL-подобной. Наконец, RT **Penelope-подобных элементов (PLE)** используют для мобилизации ещё один тип EN (GIY-YIG), в результате чего количество типов эндонуклеаз, связанных с ретротранспозонами эукариот, достигает пяти. Более подробное свежее описание механизмов ретромобильности можно найти в обзоре Paul et al. [30].

ПРОКАРИОТИЧЕСКИЕ МОБИЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ: ИНТРОНЫ ГРУППЫ II, РЕТРОПЛАЗМИДЫ

Интроны группы II (G2I) представляют собой самосплайсинговые ретроэлементы, обнаруженные у бактерий, некоторых архей и органелл эукариот [31]. Они были впервые найдены в митохондриях грибов и, как было показано, обладают такой же структурной организацией у бактерий и архей и часто рассматриваются в качестве эволюционных предшественников эукариотических сплайсосомных интронов. Их ретромобильность обеспечивается совместным действием каталитически активной РНК, выполняющей функцию рибозима в реакциях самосплайсинга и обратного сплайсинга, а также кодируемой интроном RT, которая синтезирует кДНК-копию интронной РНК в сайте-мишени с использованием механизма TPRT.

Ретроплазмиды были обнаружены в митохондриях грибов [32] и долгое время служили

модельной системой для изучения нестандартных способов праймирования обратными транскриптазами (белковое праймирование, в процессе которого RT использует в качестве праймера гидроксильную группу остатка тирозина или серина, или инициация *de novo*, при которой вообще не используется праймер). Их распространение всё же весьма ограничено, поскольку они присутствуют лишь в нескольких десятках видов грибов среди сотен секвенированных грибных геномов. Ожидается, что, будучи внехромосомными образованиями, они не подвергаются интеграции, но формально составляют часть мобилома благодаря способности реплицироваться автономно.

НЕМОБИЛЬНЫЕ РЕТРОЭЛЕМЕНТЫ В БАКТЕРИЯХ И АРХЕЯХ: РЕТРОНЫ, DGR, Abi/UG, Cas-АССОЦИИРОВАННЫЕ, G2I-ПОДОБНЫЕ

Ретроны представляют собой своеобразные «одомашненные» бактериальные элементы, состоящие из ковалентно связанной РНК и мультикопийной одноцепочечной ДНК (оцДНК) в одной разветвлённой молекуле, соединённой 2'-5'-фосфодиэфирными связями [22, 23]. Каждый отдельный участок ретрона кодирует последовательность белка RT, некодирующую РНК, которая подвергается обратной транскрипции с помощью RT с образованием химерных одноцепочечных молекул ДНК/РНК, а также эффекторный ген, необходимый для антифаговой активности. Несмотря на то, что ретроны были первыми прокариотическими немобильными ретроэлементами, открытыми более 30 лет назад, их клеточная функция была выяснена только в 2020 г. [33–35]. Ретроны обеспечивают защиту хозяина от широкого спектра фагов посредством abortивной инфекции и последующей гибели клеток. Они широко распространены у бактерий, являясь одним из основных компонентов бактериальной иммунной системы. Однако точные механизмы, посредством которых они дают бактериям устойчивость к фагам за счёт обратной транскрипции, до сих пор неизвестны. Появление RT в трёхчастных модулях вместе с матрицей РНК и множеством предполагаемых эффекторных генов предполагает их прямое взаимодействие в индукции антифагового ответа [36]. Действительно, такое взаимодействие наблюдалось в комплексе RT, родственной ей оцДНК и связанной эффекторной нуклеозиддезоксирибозилтрансферазы [37].

Ретроэлементы, генерирующие разнообразие (diversity-generating retroelements, DGR), представляют собой немобильные RT, которые модифицируют соседние с ними последовательности ДНК у бактерий, архей и вирусов [38, 39]. Несмотря на то что DGR не являются жизненно необходимыми ретроэлементами, они тем не менее полезны для своих хозяев. В наиболее детально описанной модельной системе DGR создают разнообразие в С-концевой вариабельной области генамишени (*mtd*), кодирующего белок бактериофага BPP-1 *Bordetella pertussis*. Возникающая в результате этого гипервариабельность белка хвоста фага – области, которая контактирует с бактериальной клеткой во время инфекции – позволяет фагу инфицировать бактериальные клетки с изменёнными рецепторами на поверхности. Используя подверженную ошибкам обратную транскрипцию, DGR помогают увеличить разнообразие продуктов генов, особенно тех, которые участвуют в связывании лигандов и прикреплении к клетке-хозяину. До сих пор остаётся загадкой то, как достигается адениновая специфичность целенаправленного гипермутагеза. Более того, проверка соседних генов в модулях DGR позволяет предположить, что гипервариабельность может не ограничиваться переключением тропизма и поверхностным дисплеем [40, 41].

Системы abortивной инфекции (abortive infection systems, Abi), представленные AbiA, AbiK и Abi-P2, представляют собой бактериальные ретроэлементы, служащие для защиты определённых бактерий от фаговых инфекций. Эти гены обнаружены только в геномах некоторых бацилл (в основном у *Lactococcus lactis*), где в основном кодируются плазмидами (AbiA и AbiK), а также в P2-подобных профагах в *Escherichia coli* (Abi-P2). Хотя подробный механизм их действия до сих пор неизвестен, ясно, что белки Abi необходимы для блокирования репликации фагов с последующей запрограммированной гибелью клеток или удалением фага [42, 43]. Интересно, что белок AbiK, как было показано, осуществляет нематричную полимеризацию ДНК *in vitro* и ковалентно присоединяется к ДНК, что указывает на белковое праймирование [44]. Таким образом, Abi представляют собой ещё один (помимо ретровирусов) тип активных RT, который даёт преимущество субпопуляции бактерий при атаке фагами. Следует отметить, что RT AbiP2 и AbiK отличаются исключительной возможностью образовывать компактные тримеры или гексамеры в растворе, а также отсутствием RT-домена «большого пальца», который

заменён α -спиральным доменом, состоящим из повторов HEAT [45, 46]. Для значительной части так называемых неизвестных групп RT (unknown groups, UG) [47], некоторые из которых были независимо названы DRT (защитные RT) [33], в более ранних исследованиях указывалось, что их невозможно отнести к конкретному типу RT, но позже было обнаружено, что они родственны RT Abi и играют роль в антифаговой защите, находясь в так называемых защитных островках, которые содержат множество других генов, обеспечивающих защиту от вторжения чужеродной ДНК [33, 45].

RT-Cas: домены RT были обнаружены рядом с CRISPR-ассоциированными генами или даже слиты с белками Cas [48–50]. Потенциально эти RT могут обеспечивать бактериальный иммунитет, выполняя синтез кДНК на РНК из бактериофагов, и действительно, было показано, что они опосредуют наследуемое приобретение коротких последовательностей (спейсеров) из чужеродных РНК-элементов [51]. Слияние с белками Cas не является необходимым, хотя и способствует более эффективной кооперации взаимодействующих доменов [52]. Эти RT не являются монофилетическими, поскольку включены в системы CRISPR-Cas из нескольких бактериальных линий RT [50].

Интроноподобные RT группы II – гетерогенная группа немобильных RT, последовательности которых имеют сходство с таковыми G2I, но лишены рибозимного компонента – были впервые описаны в работе Simon et al. [48]. Недавно было обнаружено, что RT G2L из *Pseudomonas aeruginosa* (RT G2L4) участвует в транслезионном синтезе ДНК и репарации двухцепочечных разрывов посредством микрогомологичного соединения концов (microhomology-mediated end-joining, MMEJ) [53]. Интересно, что замена YADD на YIDD в активном центре RT G2L4 ответственна за сдвиг в сторону выполнения MMEJ вместо удлинения праймера, что характерно для каноничных RT G2I с YADD в каталитическом центре. Тем не менее каноничная RT G2I также была способна выполнять репарацию ДНК.

НЕМОБИЛЬНЫЕ ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ RT И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ: ТЕЛОМЕРАЗА, RVT, Prp8

Теломеразная обратная транскриптаза (TERT, telomerase reverse transcriptase), описанная выше, несомненно, является наиболее

известной RT с ключевой клеточной функцией. За счёт своей главной функции поддержания длины линейных хромосом она играет хорошо описанную роль в старении, развитии рака и других заболеваний человека (апластическая анемия, синдром кошачьего крика, врождённый дискератоз и т.д.). Разрабатываются многочисленные методы фармацевтического воздействия на активную теломеразу и связанную с ней матрицу РНК TERT в контексте противораковой терапии и лечения возрастных заболеваний (недавний обзор приведён в работе Fragkiadaki et al. [54]).

Гены, родственные обратной транскриптазе (reverse transcriptase-related genes, *rvt*), представляют собой последний обнаруженный тип «одомашненных» эукариотических RT, широко распространённый у грибов и иногда встречающийся у отдельных растений, простейших и беспозвоночных [55]. Поразительно, что эти гены присутствуют как у прокариот, так и у эукариот, в отличие от всех других типов RT. Примечательно, что RVT изо всех типов бактерий образуют монофилетическую группу, что позволяет предположить, что они не были переданы горизонтально от эукариот, как изначально предполагалось, но, возможно, присутствовали в бактериях до эукариогенеза [56]. Гены *rvt* кодируют активные RT-подобные белки, которые у грибов могут полимеризовать как dNTP, так и NTP. Белки RVT также способны к белковому праймированию. Хотя биологическая функция генов *rvt* ещё не полностью изучена, они явно сохраняются в результате естественного отбора, что указывает на их важность для клеток-хозяев. Эти гены сильно активируются при аминокислотном голодании и применении некоторых антибиотиков у грибов, что позволяет предположить их участие в ответе на такие агенты [55].

Фактор процессинга пре-мРНК 8 (pre-mRNA-processing factor 8, Prp8) представляет собой необычное «одомашненное» производное RT, которое потеряло два из трёх каталитических остатков аспартата, в результате чего утратило способность полимеризовать нуклеотиды [57]. Тем не менее Prp8 является важной частью эукариотической сплайсосомы, регулирующей её сборку и конформацию во время сплайсинга пре-мРНК [58]. Было высказано предположение, что RT-фрагмент Prp8 происходит от мобильных интронов группы II [59]. Это даёт нам ещё один пример того, как в ходе эволюции «эгоистичные» ретротранспозоны могут давать начало важным компонентам эукариотических клеток, в данном случае в качестве структурного элемента,

который заключает в себе центральную часть крупного мультидоменного белка, связывающую U5-мРНК (рис. 1, б). Отсутствие каталитических остатков и очень высокая консервативность последовательностей, обусловленная эволюционными ограничениями, налагаемыми функцией сплайсосомы, препятствуют однозначному филогенетическому размещению этого RT-производного домена, но его происхождение, несомненно, восходит к последнему общему предку всех эукариот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из приведённых выше описаний RT легко заключить, что те из них, которые принадлежат к типам, открытым в более ранние годы, как правило, обнаруживались у многочисленных организмов с большим количеством копий RT. Вначале это были вирусы, а затем клеточные многокопийные мобильные генетические элементы: у эукариот – LTR, DIRS и LINE-подобные ретротранспозоны, у прокариот – мобильные интроны группы II и ретроплазмиды, а также ретроны, продуцирующие многочисленные разветвлённые молекулы ДНК–РНК в бактериальных клетках. Ретромобильность обычно обеспечивается определённым типом эндонуклеазы, связанной с каждым мобильным элементом и дающей возможность осуществлять внутривнутрихромосомную вставку копии кДНК. На начальных этапах многие эукариотические мобильные элементы были выявлены по своей способности вызывать инсерционные мутации с видимыми фенотипами в штаммах, где происходит транспозиция мультикопийных элементов [60]. Сейчас очевидно, что RT могут выполнять широкий спектр функций, помимо роли в распространении «эгоистичных» генетических элементов. Мы утверждаем, что многообразие «одомашненных» RT было сильно занижено, а их роль существенно недооценена, и существует множество возможностей рекрутирования RT клетками-хозяевами, несмотря на то, что в целом они не являются незаменимыми и распределены неравномерно. Неудивительно, что иногда от первоначальной идентификации того или иного элемента до правильного определения его функции в клетке-хозяине может пройти много времени, вплоть до десятилетий, если он даёт хозяину селективное преимущество лишь в определённых условиях. Теломеразная RT, кодируемая геном с одной копией, представляет собой существенное исключение, поскольку она практически повсеместно при-

сутствует в эукариотах, и открытие того факта, что она кодирует специализированную RT, т.е. фермент, который ранее считался характерным лишь для вирусов и мобильных элементов, произвело настоящую революцию в данной области исследований [26]. Тем не менее даже критически важная функция поддержания стабильности теломер может поддерживаться за счёт независимых запасных путей [61].

Стоит подчеркнуть, что «приручение» RT у эукариот неразрывно связано с появлением дополнительных функциональных доменов, которые предотвращают произвольный синтез ею кДНК с использованием случайных комбинаций праймер/матрица. В целом, не ожидается, что синтез копий кДНК на случайных матрицах РНК клетки-хозяина принесёт ей пользу, и этот процесс следует предотвращать. Самый простой способ это сделать – устранить каталитическую активность путём замены остатков активного центра, как в случае Prp8. Другой вариант – изменить конфигурацию активного центра за счёт вставки дополнительных структурных петель, как в генах *rvf*. Наконец, TERT достигли строгой субстратной специфичности благодаря высокой степени специализации в отношении несвязанной высокоструктурированной РНК (называемой TER или TR), которая содержит короткий обратный комплемент теломерной повторяющейся единицы, служащей матрицей, и специфически взаимодействует с доменом TRBD, выполняя высокопроцессивный синтез ДНК по механизму обратной транскрипции, праймируемой в сайте интеграции (target-primed

reverse transcription, TPRT) с 3'-концов экспонированных коротких G-богатых tandemных повторов на концах линейных хромосом [62]. Трудно не удивляться тому, что специализированный фермент, для которого Оловниковым была предсказана способность решать проблему утраты концевой ДНК и сохранять целостность хромосом, происходит от мобильных элементов, изначально предназначенных для нарушения стабильности хромосом.

Вклад авторов. И.Р. Архипова, И.А. Юшенова – концепция, написание и редактирование текста статьи; рисунки были адаптированы И.А. из своей презентации на конференции 2022 г. «Пятьдесят лет обратной транскриптазы» (Cold Spring Harbor, “Fifty Years of Reverse Transcriptase”).

Благодарности. Работа посвящена памяти Алексея Оловникова и заменяет собой запланированную ранее личную беседу, которая должна была произойти в Москве, но так и не состоялась.

Финансирование. Лабораторные исследования поддержаны грантами Национального института здравоохранения США (И.А., R01GM111917) и Национального научного фонда США (И.А. и И.Ю. – MCB-2139001, MCB-2326038).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Данная статья не содержит описаний каких-либо исследований с участием людей или использованием животных, выполненных авторами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides [in Russian], *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **201**, 1496-1499.
- Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
- Watson, J. D. (1972) Origin of concatemeric T7 DNA, *Nat. New Biol.*, **239**, 197-201, doi: 10.1038/newbio239197a0.
- Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts, *Cell*, **43**, 405-413, doi: 10.1016/0092-8674(85)90170-9.
- Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1989) A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis, *Nature*, **337**, 331-337, doi: 10.1038/337331a0.
- Temin, H. M., and Mizutani, S. (1970) RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus, *Nature*, **226**, 1211-1213, doi: 10.1038/2261211a0.
- Baltimore, D. (1970) RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses, *Nature*, **226**, 1209-1211, doi: 10.1038/2261209a0.
- Temin, H. M. (1964) Nature of the provirus of Rous sarcoma, *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, **17**, 557-570.
- Temin, H. M. (1985) Reverse transcription in the eukaryotic genome: retroviruses, pararetroviruses, retrotransposons, and retrotranscripts, *Mol. Biol. Evol.*, **2**, 455-468, doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040365.
- Toh, H., Hayashida, H., and Miyata, T. (1983) Sequence homology between retroviral reverse tran-

- scriptase and putative polymerases of hepatitis B virus and cauliflower mosaic virus, *Nature*, **305**, 827-829, doi: 10.1038/305827a0.
11. Georgiev, G. P., Ilyin, Y. V., Ryskov, A. P., Tchurikov, N. A., Yenikolopov, G. N., Gvozdev, V. A., and Ananiev, E. V. (1977) Isolation of eukaryotic DNA fragments containing structural genes and the adjacent sequences, *Science*, **195**, 394-397, doi: 10.1126/science.401545.
 12. Finnegan, D. J., Rubin, G. M., Young, M. W., and Hogness, D. S. (1978) Repeated gene families in *Drosophila melanogaster*, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **42**, 1053-1063, doi: 10.1101/sqb.1978.042.01.106.
 13. Glover, D. M., White, R. L., Finnegan, D. J., and Hogness, D. S. (1975) Characterization of six cloned DNAs from *Drosophila melanogaster*, including one that contains the genes for rRNA, *Cell*, **5**, 149-157, doi: 10.1016/0092-8674(75)90023-9.
 14. Schaffner, W., Gross, K., Telford, J., and Birnstiel, M. (1976) Molecular analysis of the histone gene cluster of *Psammecinus miliaris*: II. The arrangement of the five histone-coding and spacer sequences, *Cell*, **8**, 471-478, doi: 10.1016/0092-8674(76)90214-2.
 15. Georgiev, G. P. (1984) Mobile genetic elements in animal cells and their biological significance, *Eur. J. Biochem.*, **145**, 203-220, doi: 10.1111/j.1432-1033.1984.tb08541.x.
 16. Saigo, K., Kugimiya, W., Matsuo, Y., Inouye, S., Yoshioka, K., and Yuki, S. (1984) Identification of the coding sequence for a reverse transcriptase-like enzyme in a transposable genetic element in *Drosophila melanogaster*, *Nature*, **312**, 659-661, doi: 10.1038/312659a0.
 17. Emori, Y., Shiba, T., Kanaya, S., Inouye, S., Yuki, S., and Saigo, K. (1985) The nucleotide sequences of *copia* and *copia* -related RNA in *Drosophila* virus-like particles, *Nature*, **315**, 773-776, doi: 10.1038/315773a0.
 18. Michel, F., and Lang, B. F. (1985) Mitochondrial class II introns encode proteins related to the reverse transcriptases of retroviruses, *Nature*, **316**, 641-643, doi: 10.1038/316641a0.
 19. Cappello, J., Handelsman, K., and Lodish, H. F. (1985) Sequence of Dictyostelium DIRS-1: an apparent retrotransposon with inverted terminal repeats and an internal circle junction sequence, *Cell*, **43**, 105-115, doi: 10.1016/0092-8674(85)90016-9.
 20. Hattori, M., Kuhara, S., Takenaka, O., and Sakaki, Y. (1986) L1 family of repetitive DNA sequences in primates may be derived from a sequence encoding a reverse transcriptase-related protein, *Nature*, **321**, 625-628, doi: 10.1038/321625a0.
 21. Fawcett, D. H., Lister, C. K., Kellett, E., and Finnegan, D. J. (1986) Transposable elements controlling I-R hybrid dysgenesis in *D. melanogaster* are similar to mammalian LINEs, *Cell*, **47**, 1007-1015, doi: 10.1016/0092-8674(86)90815-9.
 22. Lampson, B. C., Sun, J., Hsu, M. Y., Vallejo-Ramirez, J., Inouye, S., and Inouye, M. (1989) Reverse transcriptase in a clinical strain of *Escherichia coli*: production of branched RNA-linked msDNA, *Science*, **243**, 1033-1038, doi: 10.1126/science.2466332.
 23. Lim, D., and Maas, W. K. (1989) Reverse transcriptase-dependent synthesis of a covalently linked, branched DNA-RNA compound in *E. coli* B, *Cell*, **56**, 891-904, doi: 10.1016/0092-8674(89)90693-4.
 24. Evgen'ev, M. B., Zelentsova, H., Shostak, N., Kozitsina, M., Barskyi, V., Lankenau, D. H., and Corces, V. G. (1997) *Penelope*, a new family of transposable elements and its possible role in hybrid dysgenesis in *Drosophila virilis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 196-201, doi: 10.1073/pnas.94.1.196.
 25. Lundblad, V., and Blackburn, E. H. (1990) RNA-dependent polymerase motifs in ESTI: Tentative identification of a protein component of an essential yeast telomerase, *Cell*, **60**, 529-530, doi: 10.1016/0092-8674(90)90653-v.
 26. Lingner, J., Hughes, T. R., Shevchenko, A., Mann, M., Lundblad, V., and Cech, T. R. (1997) Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase, *Science*, **276**, 561-567, doi: 10.1126/science.276.5312.561.
 27. Olovnikov, A. M. (1996) Telomeres, telomerase, and aging: origin of the theory, *Exp. Gerontol.*, **31**, 443-448, doi: 10.1016/0531-5565(96)00005-8.
 28. Arkhipova, I. R., Mazo, A. M., Cherkasova, V. A., Gorelova, T. V., Schuppe, N. G., and Ilyin, Y. V. (1986) The steps of reverse transcription of *Drosophila* mobile genetic elements and U3-R-U5 structure of their LTRs, *Cell*, **44**, 555-563, doi: 10.1016/0092-8674(86)90265-5.
 29. Krupovic, M., Blomberg, J., Coffin, J. M., Dasgupta, I., Fan, H., Geering, A. D., Gifford, R., Harrach, B., Hull, R., Johnson, W., Kreuze, J. F., Lindemann, D., Llorens, C., Lockhart, B., Mayer, J., Muller, E., Olszewski, N., Pappu, H. R., Pooggin, M., Richert-Poggeler, K. R., et al. (2018) Ortervirales: A new viral order unifying five families of reverse-transcribing viruses, *J. Virol.*, **92**, e00515-18, doi: 10.1128/jvi.00515-18.
 30. Paul, B. G., Yushenova, I. A., and Arkhipova, I. R. (2022) *The Diversity of Reverse Transcriptases in Retrotransposons and Human Disease* (Gabriel, A., ed.) World Scientific, Singapore, pp. 1-28, doi: 10.1142/9789811249228_0001.
 31. Lambowitz, A. M., and Belfort, M. (2015) Mobile bacterial group II introns at the crux of eukaryotic evolution, *Microbiol. Spectr.*, **3**, doi: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0050-2014.
 32. Arkhipova, I. R., and Yushenova, I. A. (2019) Giant transposons in eukaryotes: Is bigger better? *Genome Biol. Evol.*, **11**, 906-918, doi: 10.1093/gbe/evz041.
 33. Gao, L., Altae-Tran, H., Böhning, F., Makarova, K. S., Segel, M., Schmid-Burgk, J. L., Koob, J.,

- Wolf, Y. I., Koonin, E. V., and Zhang, F. (2020) Diverse enzymatic activities mediate antiviral immunity in prokaryotes, *Science*, **369**, 1077-1084, doi: 10.1126/science.aba0372.
34. Millman, A., Bernheim, A., Stokar-Avihail, A., Fedorenko, T., Voichek, M., Leavitt, A., Oppenheimer-Shaanan, Y., and Sorek, R. (2020) Bacterial retrons function in anti-phage defense, *Cell*, **183**, 1551-1561, doi: 10.1016/j.cell.2020.09.065.
 35. Bobonis, J., Mitosch, K., Mateus, A., Karcher, N., Kritikos, G., Selkig, J., Zietek, M., Monzon, V., Pfalz, B., Garcia-Santamarina, S., Galardini, M., Sueki, A., Kobayashi, C., Stein, F., Bateman, A., Zeller, G., Savitski, M. M., Elfenbein, J. R., Andrews-Polymenis, H. L., and Typas, A. (2022) Bacterial retrons encode phage-defending tripartite toxin-antitoxin systems, *Nature*, **609**, 144-150, doi: 10.1038/s41586-022-05091-4.
 36. Mestre, M. R., González-Delgado, A., Gutiérrez-Rus, L. I., Martínez-Abarca, F., and Toro, N. (2020) Systematic prediction of genes functionally associated with bacterial retrons and classification of the encoded tripartite systems, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 12632-12647, doi: 10.1093/nar/gkaa1149.
 37. Wang, Y., Guan, Z., Wang, C., Nie, Y., Chen, Y., Qian, Z., Cui, Y., Xu, H., Wang, Q., Zhao, F., Zhang, D., Tao, P., Sun, M., Yin, P., Jin, S., Wu, S., and Zou, T. (2022) Cryo-EM structures of *Escherichia coli* Ec86 retron complexes reveal architecture and defence mechanism, *Nat. Microbiol.*, **7**, 1480-1489, doi: 10.1038/s41564-022-01197-7.
 38. Guo, H., Arambula, D., Ghosh, P., and Miller, J. F. (2014) Diversity-generating retroelements in phage and bacterial genomes, *Microbiol. Spectr.*, **2**, MDNA3-0029-2014, doi: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0029-2014.
 39. Paul, B. G., Burstein, D., Castelle, C. J., Handa, S., Arambula, D., Czornyj, E., Thomas, B. C., Ghosh, P., Miller, J. F., Banfield, J. F., and Valentine, D. L. (2017) Retroelement-guided protein diversification abounds in vast lineages of Bacteria and Archaea, *Nat. Microbiol.*, **2**, 17045, doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.45.
 40. Roux, S., Paul, B. G., Bagby, S. C., Nayfach, S., Allen, M. A., Attwood, G., Cavicchioli, R., Chistoserdova, L., Gruninger, R. J., Hallam, S. J., Hernandez, M. E., Hess, M., Liu, W. T., McAllister, T. A., O'Malley, M. A., Peng, X., Rich, V. I., Saleska, S. R., and Elie-Fadrosh, E. A. (2021) Ecology and molecular targets of hypermutation in the global microbiome, *Nat. Commun.*, **12**, 3076, doi: 10.1038/s41467-021-23402-7.
 41. Paul, B. G., and Eren, A. M. (2022) Eco-evolutionary significance of domesticated retroelements in microbial genomes, *Mobile DNA*, **13**, 6, doi: 10.1186/s13100-022-00262-6.
 42. Fortier, L. C., Bouchard, J. D., and Moineau, S. (2005) Expression and site-directed mutagenesis of the lactococcal abortive phage infection protein *AbiK*, *J. Bacteriol.*, **187**, 3721-3730, doi: 10.1128/jb.187.11.3721-3730.2005.
 43. Lopatina, A., Tal, N., and Sorek, R. (2020) Abortive infection: bacterial suicide as an antiviral immune strategy, *Annu. Rev. Virol.*, **7**, 371-384, doi: 10.1146/annurev-virology-011620-040628.
 44. Wang, C., Villion, M., Semper, C., Coros, C., Moineau, S., and Zimmerly, S. (2011) A reverse transcriptase-related protein mediates phage resistance and polymerizes untemplated DNA *in vitro*, *Nucleic Acids Res.*, **39**, 7620-7629, doi: 10.1093/nar/gkr397.
 45. Mestre, M. R., Gao, L. A., Shah, S. A., López-Beltrán, A., González-Delgado, A., Martínez-Abarca, F., Iranzo, J., Redrejo-Rodríguez, M., Zhang, F., and Toro, N. (2022) UG/Abi: a highly diverse family of prokaryotic reverse transcriptases associated with defense functions, *Nucleic Acids Res.*, **50**, 6084-6101, doi: 10.1093/nar/gkac467.
 46. Figiel, M., Gapińska, M., Czarnocki-Cieciura, M., Zajko, W., Sroka, M., Skowronek, K., and Nowotny, M. (2022) Mechanism of protein-primed template-independent DNA synthesis by *Abi* polymerases, *Nucleic Acids Res.*, **50**, 10026-10040, doi: 10.1093/nar/gkac772.
 47. Zimmerly, S., and Wu, L. (2015) An unexplored diversity of reverse transcriptases in bacteria, *Microbiol. Spectrum*, **3**, MDNA3-0058-2014, doi: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0058-2014.
 48. Simon, D. M., and Zimmerly, S. (2008) A diversity of uncharacterized reverse transcriptases in bacteria, *Nucleic Acids Res.*, **36**, 7219-7229, doi: 10.1093/nar/gkn867.
 49. Kojima, K. K., and Kanehisa, M. (2008) Systematic survey for novel types of prokaryotic retroelements based on gene neighborhood and protein architecture, *Mol. Biol. Evol.*, **25**, 1395-1404, doi: 10.1093/molbev/msn081.
 50. Toro, N., Martínez-Abarca, F., Mestre, M. R., and González-Delgado, A. (2019) Multiple origins of reverse transcriptases linked to CRISPR-Cas systems, *RNA Biol.*, **16**, 1486-1493, doi: 10.1080/15476286.2019.1639310.
 51. Silas, S., Mohr, G., Sidote, D. J., Markham, L. M., Sanchez-Amat, A., Bhaya, D., Lambowitz, A. M., and Fire, A. Z. (2016) Direct CRISPR spacer acquisition from RNA by a natural reverse transcriptase-Cas1 fusion protein, *Science*, **351**, aad4234, doi: 10.1126/science.aad4234.
 52. Mohr, G., Silas, S., Stamos, J. L., Makarova, K. S., Markham, L. M., Yao, J., Lucas-Elio, P., Sanchez-Amat, A., Fire, A. Z., Koonin, E. V., and Lambowitz, A. M. (2018) A reverse transcriptase-Cas1 fusion protein contains a Cas6 domain required for both CRISPR RNA biogenesis and RNA spacer acquisition, *Mol. Cell*, **72**, 700-714, doi: 10.1016/j.molcel.2018.09.013.

53. Park, S. K., Mohr, G., Yao, J., Russell, R., and Lambowitz, A. M. (2022) Group II intron-like reverse transcriptases function in double-strand break repair, *Cell*, **185**, 3671-3688.e3623, doi: 10.1016/j.cell.2022.08.014.
54. Fragkiadaki, P., Renieri, E., Kalliantasi, K., Kouvidi, E., Apalaki, E., Vakonaki, E., Mamoulakis, C., Spandidos, D. A., and Tsatsakis, A. (2022) Telomerase inhibitors and activators in aging and cancer: A systematic review, *Mol. Med. Rep.*, **25**, 158, doi: 10.3892/mmr.2022.12674.
55. Gladyshev, E. A., and Arkhipova, I. R. (2011) A widespread class of reverse transcriptase-related cellular genes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20311-20316, doi: 10.1073/pnas.1100266108.
56. Yushenova, I. A., and Arkhipova, I. R. (2018) Biochemical properties of bacterial reverse transcriptase-related (*rvt*) gene products: multimerization, protein priming, and nucleotide preference, *Curr. Genet.*, **64**, 1287-1301, doi: 10.1007/s00294-018-0844-6.
57. Dlakic, M., and Mushegian, A. (2011) Prp8, the pivotal protein of the spliceosomal catalytic center, evolved from a retroelement-encoded reverse transcriptase, *RNA*, **17**, 799-808, doi: 10.1261/rna.2396011.
58. Grainger, R. J., and Beggs, J. D. (2005) Prp8 protein: at the heart of the spliceosome, *RNA*, **11**, 533-557, doi: 10.1261/rna.2220705.
59. Galej, W. P., Oubridge, C., Newman, A. J., and Nagai, K. (2013) Crystal structure of Prp8 reveals active site cavity of the spliceosome, *Nature*, **493**, 638-643, doi: 10.1038/nature11843.
60. Lambert, M. E., McDonald, J. F., and Weinstein, I. B. (1988) *Eukaryotic Transposable Elements as Mutagenic Agents*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
61. Arkhipova, I. R. (2012) *Telomerase, retrotransposons, and evolution*, in *Telomerases: Chemistry, Biology, and Clinical Applications* (Lue, N. F., and Autexier, C., eds.) John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, pp. 265-299, doi: 10.1002/9781118268667.ch11.
62. Lue, N. F., and Autexier, C. (2006) The structure and function of telomerase reverse transcriptase, *Annu. Rev. Biochem.*, **75**, 493-517, doi: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142412.
63. Geer, L. Y., Domrachev, M., Lipman, D. J., and Bryant, S. H. (2002) CDART: protein homology by domain architecture, *Genome Res.*, **12**, 1619-1623, doi: 10.1101/gr.278202.
64. Marchler-Bauer, A., Derbyshire, M. K., Gonzales, N. R., Lu, S., Chitsaz, F., and Geer, L. Y. (2015) CDD: NCBI's conserved domain database, *Nucleic Acids Res.*, **43**, D222-D226, doi: 10.1093/nar/gku1221.

TO BE MOBILE OR NOT: THE VARIETY OF REVERSE TRANSCRIPTASES AND THEIR RECRUITMENT BY HOST GENOMES

Review

I. R. Arkhipova* and I. A. Yushenova

*Josephine Bay Paul Center for Comparative Molecular Biology and Evolution, Marine Biological Laboratory,
Woods Hole, MA 02543 USA; e-mail: iarkhipova@mbl.edu, iyushenova@mbl.edu*

Reverse transcriptases (RT), or RNA-dependent DNA polymerases, are unorthodox enzymes that originally added a new angle to the conventional view of the unidirectional flow of genetic information in the cell from DNA to RNA to protein. First discovered in vertebrate retroviruses, RTs were since re-discovered in most eukaryotes, bacteria, and archaea, spanning essentially all domains of life. For retroviruses, RTs provide the ability to copy the RNA genome into DNA for subsequent incorporation into the host genome, which is essential for their replication and survival. In cellular organisms, most RT sequences originate from retrotransposons, the type of self-replicating genetic elements that rely on reverse transcription to copy and paste their sequences into new genomic locations. Some retroelements, however, can undergo domestication, eventually becoming a valuable addition to the overall repertoire of cellular enzymes. They can be beneficial yet accessory, like the diversity-generating elements, or even essential, like the telomerase reverse transcriptases. Nowadays, ever-increasing numbers of domesticated RT-carrying genetic elements are being discovered. It may be argued that domesticated RTs and reverse transcription in general is more widespread in cellular organisms than previously thought, and that many important cellular functions, such as chromosome end maintenance, may evolve from an originally selfish process of converting RNA into DNA.

Keywords: reverse transcription, RNA-dependent DNA polymerase, telomerase reverse transcriptase

ЭФФЕКТЫ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ФИЗИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ: СХОДНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИЛИ ОБЩИЕ МЕХАНИЗМЫ?

Обзор

© 2023 А.Ю. Ратушный, Л.Б. Буравкова*

*Институт медико-биологических проблем РАН,
123007 Москва, Россия; электронная почта: buravkova@imbp.ru*

Поступила в редакцию 18.07.2023

После доработки 13.10.2023

Принята к публикации 14.10.2023

Несмотря на использование средств профилактики (в том числе интенсивных физических нагрузок), у космонавтов и астронавтов в длительных космических полетах развиваются атония и атрофия мышц, недостаточность сердечно-сосудистой системы, остеопения и др. Все эти изменения, напоминающие возрастные физиологические сдвиги, наступают у здорового человека в условиях микрогравитации довольно быстро – в течение нескольких месяцев. То есть адаптация к отсутствию гравитации приводит к симптоматике старения, которая компенсируется после возвращения на Землю. Перспектива межпланетных полетов ставит вопрос о пороговых значениях гравитации, ниже которых основные физиологические системы будут терять свой функциональный потенциал по аналогии со старением и влиять на продолжительность жизни. Важная роль в процессах старения принадлежит клеточному резерву организма – прогениторным клеткам, которые участвуют в физиологическом ремоделировании и регенеративных/репаративных процессах всех физиологических систем. С возрастом их число уменьшается, и снижается регенеративный потенциал. Более того, их паракринный спектр при клеточном старении становится провоспалительным, нарушая тканевой гомеостаз. Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки являются механочувствительными, и поэтому отсутствие гравитационного стимула вызывает серьезные изменения их функционального статуса. В обзоре проведено сравнение клеточных эффектов микрогравитации и изменений, развивающихся в сенесцентных клетках, в том числе стромальных предшественниках.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: микрогравитация, старение организма, клеточное старение, мезенхимальные стромальные клетки (МСК).

DOI: 10.31857/S032097252311009X, EDN: MLINNI

ВВЕДЕНИЕ

Факторы космического полета, в частности, невесомость/микрогравитация, повышают риски ухудшения здоровья космонавтов, несмотря на тщательный предполетный отбор [1–3]. В связи с этим одной из наиболее существенных научных проблем космической медицины является поиск фундаментальных механизмов адаптации к воздействию микрогравитации на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. Особый интерес представляет

сходство физиологических изменений, происходящих в условиях космического полета и при старении организма человека, что поднимает фундаментальный вопрос об общности молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в их основе. В то же время после возвращения на Землю наблюдается восстановление и нормализация физиологических процессов в органах и тканях. Старение же ведет к однопавленным, прогрессирующим патологическим изменениям [1, 4].

Известно, что длительные космические полеты могут приводить к появлению признаков, характерных для старения, во многих системах организма [4–7]. Исследования, проведенные на орбитальной станции «Мир» и Международной космической станции, показали, что длительное пребывание в космосе приводит к снижению плотности костей [8–11],

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ВКМ – внеклеточный матрикс; ММГ – моделированная микрогравитация; МСК – мезенхимальные стволовые/стромальные клетки; Rb – белок ретинобластомы; RPM – устройство рандомизации положения объекта относительно вектора гравитации.

* Адресат для корреспонденции.

дисфункции иммунной системы [12], проблемам функционирования сердечно-сосудистой системы [13, 14], а также снижению массы и силы скелетной мускулатуры [15]. В опорно-двигательном аппарате отмечаются проблемы и с хрящевой тканью. Снижается размер хондроцитов гранул, синтез протеогликанов и динамическая жесткость трехмерных хрящевых конструкций [7]. Можно отметить также умеренный гипотиреоз, повышенное содержание гормонов стресса (в основном катехоламинов), снижение уровня половых стероидов, инсулинорезистентность и системный воспалительный ответ [6, 16]. Сходные изменения происходят при старении человека в условиях земной гравитации, но в космосе они развиваются намного быстрее.

В контексте воздействия микрогравитации одним из наиболее важных рисков являются дистрофические изменения опорно-двигательного аппарата. В недавнем мета-обзоре на эту тему просуммированы данные 25 экспериментальных статей. Исследователи проанализировали значения плотности костной ткани после полета для 148 человек, а также биохимические маркеры костной ткани в полете и после полета для 124 человек. У космонавтов, которые провели в полете более 28 дней, обнаружено снижение плотности костей в нижних конечностях на 5,4% ($n = 96$) относительно предполетного уровня. После приземления маркеры резорбции снижались, и баланс смещался в сторону костеобразования [11].

Некоторые механизмы, лежащие в основе снижения плотности костей в условиях космического полета, могут быть очень похожи на механизмы остеопороза, ассоциированного со старением и/или гиподинамией. Уменьшение костной массы и остеопороз проявляются как у пожилых людей, так и у пациентов любого возраста, ведущих малоподвижный образ жизни [6]. В первую очередь, можно выделить снижение механической нагрузки на опорно-двигательный аппарат. Во-вторых, отметить снижение уровня половых гормонов, таких как тестостерон и эстроген. Интересно, что у мужчин-астронавтов наблюдается как снижение нагрузки, так и снижение тестостерона (сравнимое с пожилыми мужчинами) [6, 17]. Необходимо отметить, что выполнение ежедневных физических тренировок и нагрузочных тестов не позволяет полностью остановить развитие остеопении.

Сходные результаты демонстрируются и в работе с животными, где 16-недельных самок мышей C57BL/6J ($n = 8$) подвергли воздействию микрогравитации в течение 15 дней во

время миссии космического корабля STS-131. Последующий анализ показал снижение объемной доли кости на 6,2% и толщины кости на 11,9%. Более детальный анализ выявил увеличение количества остеокластов. Экспрессия матриксных металлопротеиназ (ММП-1, -3 и -10) в костях также повышалась. В то же время экспрессия гена *CDKN1a*, кодирующего p21 (один из ингибиторов клеточного цикла и важных маркеров клеточного старения), в остеобластах увеличивалась в 3,3 раза. Это может доказывать, что в основе изменения костного гомеостаза в условиях микрогравитации лежат остеолитические остеокласты и p21-опосредованная остановка клеточного цикла остеобластов [18]. Таким образом, феноменология длительного воздействия факторов космического полета на физиологию костной ткани позволяет провести некоторые параллели с возрастными изменениями. Это дает основания предполагать существование сходных клеточных механизмов.

Последние исследования с участием астронавтов обнаруживают еще больше связей между изменениями во время космических полетов и при старении. Современные молекулярно-биологические методы позволяют оценить состояние генетического аппарата при различных воздействиях. Так, американские исследователи провели оценку динамики изменения длины теломер (концевых участков хромосом) и ответа на повреждение ДНК (DDR – DNA damage response) в мононуклеарных клетках периферической крови до, во время и после длительных полетов (до года) на борту МКС у 11 астронавтов. Сокращение теломерных участков считается одним из классических признаков старения, что будет подробнее рассмотрено ниже. Несмотря на то что все обследуемые прошли строгий медицинский отбор и не имели замечаний к состоянию здоровья, у них отмечены более низкие значения длины теломер и меньший уровень теломеразной активности по сравнению с контрольной группой здоровых обследуемых того же возраста. Интересно, что длина теломер несколько увеличивалась во время космических полетов, но затем этот показатель быстро снижался после возвращения на Землю [19]. В результате почти у всех астронавтов длина теломер после полета была ниже дополетных значений, несмотря на индивидуальные различия. Авторы установили положительную корреляцию окислительного стресса и динамики изменения длины теломер. Кроме этого, во время и после космических полетов наблюдалось возрастание частоты появления хромосомных инверсий. Выдвинуто предположение,

что хронический окислительный стресс во время космических полетов транзиторно активирует в соматических клетках альтернативный путь регуляции длины теломер, не зависящий от активности теломеразы [19].

Обсуждая данные об увеличении длины теломер во время космических полетов, необходимо отметить, что космонавты и астронавты используют физические нагрузки (около часа ежедневно) в качестве средства профилактики неблагоприятного действия невесомости. Анализ эффектов бега на длину теломер [20] выявил его положительное влияние на этот показатель в мононуклеарных клетках крови, при этом длина теломер положительно коррелировала с уровнем тренированности спортсменов [21].

Если рассматривать длину теломер (или любой другой признак старения) как один из «интегративных маркеров» кумулятивного действия генетических и внешних факторов (окружающая среда и образ жизни) на старение организма, то, анализируя влияние космических полетов на физиологические процессы, необходимо помнить, что, помимо микрогравитации, на организм здорового человека будет влиять повышенный уровень радиации, транзиторные изменения нормоксической атмосферы станции (повышение уровня CO₂, органические примеси в атмосфере), изменение микробиома, а также стрессовые ситуации (например, внекорабельная деятельность, отказы элементов систем жизнеобеспечения и др.).

Интересно, что концентрация провоспалительных интерлейкинов и хемокинов в плазме крови астронавтов достоверно коррелировала с длиной теломер и повышалась в условиях длительных космических полетов. В плазме космонавтов было обнаружено повышение содержания таких факторов, как TNF α , IL-8, IL-1 α , TPO, VEGF, MCP-1, CCL4, CXCL5, включая провоспалительные цитокины [12], что может рассматриваться как хроническое (стерильное) воспаление, являющееся одним из признаков старения.

Во время космического полета микрогравитация является основным фактором, влияющим на здоровье астронавтов [22]. Поскольку физиологические изменения на уровне организма являются следствием модификации функционирования клеток, мы сравнили клеточные изменения при старении и в условиях микрогравитации.

Безусловно, необходимо помнить, что в физиологических эффектах влияния гравитации большую роль играют и центральные регуляторные процессы, такие как изменение

биоритмов, гормонального статуса и другие, влияющие на состояние (и старение) клеток в контексте целостной единой системы. Эти эффекты являются предметом отдельных исследований. В частности, они рассматриваются в нейроэндокринной теории старения Дильмана и в гипотезе А.М. Оловникова о возможных молекулярных механизмах развития и старения многоклеточных организмов, в том числе с участием нейроэндокринных клеток и гравитационных влияний. Там же упоминается и восприятие животными гравитационных инфраничных ритмов, которые могут нарушаться в космическом полете и, вероятно, приводить к ускоренному старению [23–27].

СТАРЕНИЕ КЛЕТОК

В современном представлении старением часто называют прогрессирующую с течением времени потерю физиологической целостности организма, ведущую к нарушениям его функций и увеличению риска смерти. Гипотезы, теории, определения старения на различных уровнях организации жизни активно обсуждаются на страницах журнала «Биохимия», в том числе в № 12 за 2022 г. В данном обзоре мы отметим лишь основные моменты. Также стоит отметить и существование эпигенетических «часов» старения, предложенных в 2013 г. Horvath [28] и в 2017 г. группой исследователей под руководством Gladyshev [29]. Однако достаточно широкое применение этих «часов» в приложении к космической биологии остается вопросом будущих исследований.

На сегодняшний день на клеточном уровне к признакам старения относят изменение межклеточного взаимодействия, истощение пула стволовых клеток, клеточное старение, митохондриальную дисфункцию, нарушение метаболизма, нарушение протеостаза, нестабильность генома, укорочение теломер, эпигенетические изменения [30]. Непосредственно клеточное старение (сенесценцию) ученые считают одним из центральных звеньев в старении организма [31]. Данный феномен характеризуется необратимым арестом клеточного цикла и может сопровождаться выраженными фенотипическими изменениями, включая усиление аутофагических процессов, модуляцию метаболизма, ремоделирование хроматина, продукцию провоспалительных цитокинов и др. [32–36]. Среди наиболее известных маркеров сенесцентного состояния клетки следует отдельно выделить морфологические изменения, включая увеличение размера и уплощение [37].

Также повышается активность старение-ассоциированной β -галактозидазы (SA- β -gal) [38] и увеличивается частота возникновения гетерохроматиновых фокусов – γ -H2AX [39]. В некоторой степени сенесцентная клетка является и следствием, и причиной старения. С одной стороны, она представляет собой следствие изменений на молекулярном уровне, которые воплощаются в реализацию программы сенесценции на уровне элементарной единицы организации жизни – на уровне клетки. С другой стороны, физиология сенесцентной клетки в значительной степени изменяется, что в долгосрочной перспективе приводит к нарушениям в работе тканей и органов.

Клеточное старение принято относить к антагонистическим признакам, которые имеют как отрицательные, так и положительные стороны. Хорошо известно, что активация сенесцентного состояния является важнейшим барьером на пути опухолеобразования. Неконтролируемое деление опухолевых клеток и неспособность к делению сенесцентных клеток представляются противоположными следствиями одних и тех же причин, а именно накопления повреждений в генетическом материале [40, 41]. Также клеточное старение играет важную роль в процессе заживления ран. При заживлении кожных ран матрицеллюлярный белок CCN1 может индуцировать старение фибробластов или миофибробластов и тем самым уменьшать фиброз [42]. Еще одной стороной положительных эффектов старения может быть и изменение межклеточного взаимодействия. Ряд паракринных медиаторов, характерных для сенесцентного секрета, даже используют при праймировании стромальных предшественников с целью использования в регенеративной медицине. В последние годы были исследованы разные подходы к праймированию для расширения возможностей стромальных прогениторов, что привело к созданию новых клеточных продуктов с улучшенным потенциалом для различных клинических применений [43]. Подобные исследования ярко иллюстрируют неоднозначность негативных и позитивных эффектов в биологии, что касается и сенесцентных клеток.

На сегодняшний день различают репликативное и стресс-индуцированное клеточное старение. Репликативным старением считают состояние клеток, при котором пролиферативная активность необратимо утеряна после ряда митозов. Основной причиной ареста клеточного цикла (в этом случае) является укорочение теломерных участков, которое можно рассматривать как частный случай нестабиль-

ности генома. В 1961 г. клеточное старение впервые было описано как прогрессивная и необратимая потеря пролиферативного потенциала соматических клеток человека. Показано, что даже в идеальных условиях культивирования фибробласты эмбриона человека способны делиться только ограниченное число раз (50 ± 10) [44]. Феномен назвали по имени автора работы – «лимит Хейфлика». Объяснение этого явления предложил А.М. Оловников в 1971 г. [45], используя данные о принципах синтеза ДНК в клетках. Согласно его гипотезе, которая позже получила экспериментальные подтверждения, при каждом клеточном делении хромосомы немного укорачиваются из-за недорепликации теломерного участка ДНК. Теломеры человека представляют собой концевые участки хромосом, которые содержат от 4 до 15 тысяч пар оснований и состоят из повторяющихся последовательностей TTAGGG. Дело в том, что ДНК-полимераза не способна синтезировать дочернюю копию ДНК с самого конца цепи – она может лишь добавлять нуклеотиды к уже имеющейся 3'-гидроксильной группе, т.е. нуждается в РНК-праймере. После удаления последнего праймера на 3'-конце дочерняя цепь неизбежно окажется короче, что приведет к постепенной потере участка теломеры в процессе последовательных циклов синтеза ДНК [46].

Стресс-индуцированное клеточное старение также характеризуется необратимым арестом клеточного цикла. В отличие от репликативного оно не связано с количеством делений. Стресс-индуцированное старение запускается в ответ на сублетальные воздействия или активацию онкогенов [36, 47]. Наиболее часто это состояние связывают с окислительным стрессом, т.е. с нарушением баланса между оксидантами (обычно активными формами кислорода (АФК)) и антиоксидантными системами. Воздействие АФК на ДНК, в том числе на мтДНК, способствует формированию продуктов окислительного повреждения оснований ДНК, таких как 8-гидрокси-2'-дигидроксиуанозин (8OHdG), а также может приводить к разрыву цепей [48]. Помимо этого, митохондриальные АФК могут активировать N-концевую киназу JUN (JNK), которая, в свою очередь, способствует высвобождению фрагментов хроматина в цитоплазму и активации провоспалительных компонентов секрета [49]. Интересно, что окислительный стресс также может ускорить укорочение теломер [50], вероятно, из-за большого содержания гуанина (G), который является наиболее уязвимым для АФК [51].

Программы репликативного и стресс-индуцированного клеточного старения реализуются через сходные механизмы в клетке. Сравнительно небольшие повреждения ДНК приводят к временному аресту клеточного цикла. После успешной репарации клетка снова может начать делиться. Такое состояние по определению нельзя назвать клеточным старением. Более значительные повреждения, длительно не поддающиеся репарации, приводят к хронической активации сигнального каскада DDR, реакции клетки на повреждение генетического материала. Хроническая активация DDR обычно возникает при множественных повреждениях ДНК и приводит к стабильному аресту клеточного цикла, главному признаку сенесцентного состояния. Стабильный арест цикла достигается путем активации сигнальных каскадов супрессоров опухолей p16INK4a/Rb и p53/p21CIP1 [47, 51]. Снова начать делиться клетка уже никогда не сможет. Оба ингибитора – p21 и p16 (кодируются генами *CDKN1A* и *CDKN2A* соответственно), подавляя активность соответствующих циклинзависимых киназ, приводят к гипофосфорилированию белка ретинобластомы (Rb). Гипофосфорилированный Rb способен связывать транскрипционные факторы семейства E2F, регулирующие клеточный цикл [52, 53]. Путем обратимого связывания и, как следствие, функциональной инактивации белков E2F, Rb контролирует экспрессию генов, продукты которых являются важными участниками регуляции клеточного цикла, и блокирует переход клеток из G1 в S-фазу. При этом путь p53/p21 преимущественно активируется первым, предотвращая пролиферацию клеток с серьезными повреждениями ДНК, тогда как путь p16/Rb вовлекается несколько позднее [32]. Однако в зависимости от клеточного контекста предпочтение может быть отдано тому или другому пути.

На клеточное старение могут влиять различные механические силы, включая напряжение сдвига, растяжение и давление [54, 55]. Можно ли рассматривать микрогравитацию как фактор, вызывающий клеточное старение или иные сходные изменения в физиологии клетки?

СЕНЕСЦЕНТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Как уже было отмечено выше, в космическом полете на организм действует целый ряд

неблагоприятных стрессовых факторов, которые могут усугублять развитие признаков, ассоциированных со старением. На клеточном уровне это может быть измененный радиационный фон, который способен нарушать целостность ДНК и усиливать окислительный стресс. В данном обзоре основное внимание сосредоточено на эффектах микрогравитации.

Рассмотрим ассоциированные со старением изменения в разных типах клеток при моделировании микрогравитации (ММГ). В силу технических ограничений по проведению экспериментов в космических полетах исследователи используют различные наземные модели. Как правило, такие модели направлены на гравитационную «разгрузку» с целью моделирования некоторых эффектов микрогравитации. Наземные эксперименты также позволяют избежать влияния повышенного радиационного фона и других факторов космического полета. Для моделирования эффектов микрогравитации на клеточных культурах чаще всего используются сосуды с вращающейся стенкой (Rotating Wall Vessel, RWV) и 2D/3D-клино-статы, такие как устройство рандомизации положения объекта относительно вектора гравитации (Random Positioning Machine, RPM). Считается, что для моделирования эффектов микрогравитации на адгезивных культурах клеток наиболее подходящим является RPM, которое представляет собой прибор, состоящий из двух рамок, осуществляющих вращение в двух перпендикулярных плоскостях с помощью специального программного обеспечения. Это приводит к рандомизации положения объекта относительно вектора гравитации. В стандартных режимах работы прибор моделирует ускорение свободного падения, эквивалентное $10^{-2} g$ [56–58].

В качестве объекта исследований используют различные клеточные культуры, включая иммортализованные линии, эндотелий, стромальные предшественники и др. [59–63]. Исследования морфофункционального состояния клеток *in vitro* позволили выявить широкий спектр изменений, свидетельствующих о прямом влиянии гравитации на клеточные структуры. Изменение положения тяжелых органелл, таких как ядро, приводит к перераспределению нагрузки на цитоскелет и вызывает его реорганизацию, также происходят модификации физического взаимодействия клетки с внеклеточным матриксом через молекулы адгезии. Все это приводит к изменению экспрессии генов, функционирования ряда белков и общей модификации функционального состояния клеток [64–68].

В отдельных работах предприняты попытки выявить в условиях ММГ активацию сенесценции в клетках феохромоцитомы (PC12), эритроцитах, миоблестах скелетных мышц и кардиомиоцитах [59, 69–71]. Wang et al. [59] исследовали влияние ММГ на клеточной линии PC12 крысы нейронального происхождения на ранних сроках (6–96 ч). Обнаружен арест клеточного цикла в фазе G1, повышение активности SA-b-gal и активация сигнальных каскадов p53 и p16, связанных с сенесценцией. Более детальный анализ выявил увеличение количества АФК, которые могут быть индуктором сенесценции. Активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (SOD), глутатионпероксидаза (GSH-Px) и каталаза (CAT), была значительно повышена через 12 ч после начала эксперимента, но снижена через 96 ч. Более того, блокировка АФК антиоксидантом N-ацетилцистеином значительно подавляла вызванное микрогравитацией повышение активности SA-b-gal. Эти результаты позволили авторам предположить, что воздействие ММГ вызывает клеточное старение в клетках PC12 через усиление окислительного стресса [59].

С использованием 3D-клиностага проведена оценка модификаций структуры и функций эритроцитов человека. Сравнивали структурные параметры эритроцитов и выбирали метаболические показатели, характерные для клеточного старения. Полученные результаты, по мнению авторов, свидетельствуют о том, что длительные экспозиции приводят к характерным морфологическим паттернам старения [69].

Показано, что ММГ с использованием 3D-клиностага «Zeroto» ускоряет старение миобластов скелетных мышц человека в культуре. Продемонстрированы значительное снижение пролиферации, характерная реорганизация цитоскелета и гипертрофия ядер клеток, повышение экспрессии SA-b-gal. Подобные изменения наблюдаются в сенесцентных миоблестах после нескольких пассажей. Авторы отмечают, что эти эффекты оставались даже после возвращения к нормальным гравитационным условиям. Кроме этого, миобласты, подвергнутые воздействию ММГ, продемонстрировали сниженную способность к дифференцировке в миотубы [70].

Совсем недавно проведены исследования на кардиомиоцитах, полученных из iPSC (Induced pluripotent stem cell) человека. Продемонстрировано, что ММГ приводит к хромосомным реорганизациям, снижению митохондриальной функции, повышению уровня АФК

и другим признакам клеточного старения. Стоит отметить, что авторы указывают и на ограничения своего исследования, с которыми сложно не согласиться. Во-первых, короткое время экспозиции в условиях ММГ (48 ч). Во-вторых, необходимость дополнительных экспериментов для демонстрации обратимости или необратимости обнаруженных изменений [71].

Некоторые другие авторы также склоняются к мысли об участии АФК в повреждении ДНК при ММГ. Отмечается, что в клетках промиелоцитарного лейкоза человека ММГ индуцирует повреждение ДНК и митохондриально-опосредованный апоптоз через повышение продукции АФК [72]. В более ранних исследованиях уже отмечалось, что клиностагирование влияет на митохондрии, один из главных продуцентов свободных радикалов в клетке, и тем самым может вызывать апоптоз в клетках щитовидной железы. Через 24 ч эксперимента 10% клеток карциномы щитовидной железы (клеточная линия ONCO-DG1) вступили на Fas-зависимый апоптотический путь. Были обнаружены разрушение и перераспределение митохондрий, разрушение микротрубочек и активация эффекторной каспазы-3. Апоптоз был также выявлен при клиностагировании в нормальных клетках щитовидной железы (HTU-5), о чем свидетельствует активация каспазы-3, повышение содержания белков Fas и Вах [73].

Исследования на эмбриональных стволовых клетках мыши показали усиление действия АФК в условиях ММГ. Авторы добавляли перекись водорода к клеткам и анализировали количество двунитевых разрывов ДНК через 24 ч. Воздействие микрогравитации на обработанные клетки значительно повышало степень повреждения ДНК [74]. О сходных результатах в 2003 г. сообщили Greco et al. [75]. Они показали увеличение частоты хромосомных aberrаций примерно в 1,2–2,8 раза при воздействии рентгеновского излучения на образцы крови после полета по сравнению с данными перед полетом. В то же время результаты другой работы показывают, что для фибробластов человека, находящихся в фазе G1 клеточного цикла, ранний ответ на блеомицин-индуцированное повреждение ДНК (количество фокусов γ -H2AX) было одинаковым как для клеток, экспонированных в условиях микрогравитации, так и для клеток статического наземного контроля [76].

Таким образом, целый ряд работ указывает на то, что ММГ может приводить к некоторым признакам клеточного старения. Более того,

в некоторой степени предполагается даже механизм, а именно окислительный стресс, ассоциированный с нарушением в работе митохондрий. Тем не менее ни в одной работе нет подтверждений перманентности ареста клеточного цикла. То есть четких доказательств, что после воздействия клетки уже не могут пролиферировать, по-прежнему не существует. Следовательно, однозначно говорить о клеточном старении в условиях ММГ пока рано. По нашему мнению, ММГ вряд ли может быть настолько сильным воздействием, чтобы привести к столь серьезным нарушениям на клеточном уровне.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СТРОМАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ В УСЛОВИЯХ ММГ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ СЕНЕСЦЕНЦИИ

Мезенхимальные стромальные/стволовые клетки (МСК) или стромальные предшественники уже обнаружены почти во всех тканях организма и играют одну из главных ролей при обновлении и регенерации. Они участвуют в поддержании гомеостаза костной ткани, гемопоэза, регуляции иммуномодуляции и ангиогенеза, и др. МСК представляют немалый интерес как для фундаментальной науки, так и для прикладного применения в регенеративной медицине, включая случаи возрастных патологий. На сегодняшний день исследователи пришли к консенсусу и связывают положительные эффекты МСК с их способностью продуцировать целый ряд секретируемых факторов, в том числе компоненты внеклеточного матрикса и цитокины [77–80].

Некоторые авторы предполагают, что патологические изменения у астронавтов могут быть связаны со старением стромальных предшественников. Дальнейшее изучение влияния микрогравитации на старение МСК способствует пониманию роли сенесцентных клеток в развитии физиологических и патологических изменений в условиях космического полета [81]. Старение в организме коррелирует со снижением функциональной активности МСК. Это снижает скорость восстановления тканей, что характерно для старения. Например, переломы остеопоротической кости в пожилом возрасте медленнее заживают из-за снижения функции и количества МСК [82].

Основной причиной повреждения клеток, как уже было отмечено выше, может являться окислительный стресс. Микрогравитация

представляет собой стрессовое воздействие, потенциально способное индуцировать выработку АФК, что в конечном итоге приводит к различным повреждениям субклеточных компартментов [83]. В недавней работе отмечено увеличение уровня свободных радикалов и митохондриальная дисфункция в МСК. Антиоксидант восстанавливал функцию митохондрий и обращал вспять старение клеток. Кроме того, ММГ способствовала экспрессии YAP (Yes-associated protein) и его транслокации в ядро. YAP является важным эффектором сигнального пути Hippo, регулирующего развитие, гомеостаз и регенерацию [81, 84, 85]. Известно, что YAP может регулировать старение клеток, влияя на сигнальные пути ATM (мутация атаксии-телеангиэктазии), p53/p21, p16/CDK/Rb, аутофагию, AMPK, mTOR и SIRT1 [86–88]. Вертепорфин (VP), ингибитор YAP, восстанавливал ММГ-индуцированную митохондриальную дисфункцию и старение МСК [81].

В некоторых других исследованиях авторы также предполагают, что ММГ вызывает старение стромальных предшественников. Были изучены молекулярные изменения, ассоциированные со стволовостью (OCT-4, SOX2, NANOG) и клеточным старением (p19, p21, p53) в МСК, выделенных из Вартонова студня. По мнению авторов, результаты указывают на клеточную адаптацию, происходящую в течение первых часов воздействия, после чего следует потеря стволовости и появление признаков молекулярной программы старения [89]. Рассмотрим подробнее основные физиологические показатели МСК в условиях микрогравитации.

Пролиферация. Пролиферация представляет собой одну из главных характеристик клеток, особенно в контексте старения. В первую очередь, старение МСК классически характеризуется перманентным арестом клеточного цикла в фазе G1. То есть сенесцентные МСК не могут пролиферировать и образовывать колонии [36, 90, 91]. Ряд работ свидетельствует, как минимум, о некотором снижении пролиферативного потенциала МСК в условиях ММГ. Так, клиностатирование в течение времени (от 1 ч до 10 суток) приводило к снижению скорости пролиферации и изменению морфологии клеток, которые становились более плоскими и достигали конfluence при более низкой плотности. При увеличении срока воздействия до 20 суток пролиферация также снижалась, при этом увеличивалось количество крупных плоских клеток в культуре [92, 93]. Подобные изменения могут быть

и признаками старения. Работа с МСК костного мозга крысы подтверждает выводы предыдущих авторов [94]. Отмечается, что клиностамирование ингибирует рост популяции МСК в G0/G1-фазе клеточного цикла.

Другие авторы не только не сумели получить схожие результаты, но и обнаружили противоположный эффект. Yuge et al. [95] показали, что скорость пролиферации МСК человека на 3D-клиностае была повышена почти в 3 раза по сравнению с контрольной группой. Авторы отметили, что ММГ можно использовать для увеличения прироста популяций стволовых клеток *in vitro*. В нашем собственном исследовании было изучено функциональное состояние МСК, выделенных из жировой ткани человека, в условиях ММГ (96 ч) при помощи RPM. Обнаружено повышение прироста клеток в 1,5–2 раза, снижение активности лизосомального компартмента, уменьшение размера и гранулярности клеток. Не выявлено изменений в уровне АФК и трансмембранном потенциале митохондрий. Проведенное исследование указывает на отсутствие признаков клеточного стресса при культивировании МСК в условиях ММГ [96].

Работа с более коммитированными потомками МСК – остеобластами – показала, что ММГ не влияла на прирост клеток или их жизнеспособность. Клетки инкубировали на 3D-клиностае в течение 12–96 ч. Через 24 ч после начала эксперимента соотношение уровней мРНК *Bax/Vcl-2* (индикатор апоптоза) было увеличено до 136% от статического контроля. Однако уровни мРНК *XIAP* (антиапоптотическая молекула) одновременно увеличились до 138% от статического контроля. Фрагментация ДНК не наблюдалась. Уровень мРНК эффекторной каспазы-3 не изменялся [97].

Таким образом, делать однозначные выводы о снижении пролиферации МСК или увеличении апоптоза в условиях ММГ, как минимум, преждевременно. Данный вопрос требует дальнейших и более детальных исследований.

Дифференцировка. Важной особенностью сенесцентных МСК считается снижение мультипотентности [90, 91], что может ослаблять их репаративные свойства в тканях всех типов. Обнаруживается смещение баланса между адипоцитарным и остеоцитарным направлениями, хотя конкретный вектор сдвига по-прежнему остается дискуссионным. Некоторые работы отметили снижение остеогенных свойств МСК с увеличением длительности культивирования или при старении [98–100]. Другие исследования не показывают сходных

изменений или даже сообщают об увеличении остеогенного потенциала [101, 102]. Столь неоднозначные результаты, получаемые разными научными группами, обычно объясняют различными методологическими подходами и экспериментальными моделями, гетерогенностью популяции МСК, а также отсутствием однозначных тестов на остеогенную дифференцировку [98, 103]. Наиболее информативным маркером остеогенного потенциала *in vitro* является индукция дифференцировки в соответствующем направлении с последующим выявлением минерализации матрикса. В то же время повышенный уровень клеточной гибели может привести к ложноположительным результатам вследствие выхода большого количества кальция из погибающих клеток и его связывания с матриксом [36, 90, 91]. Касательно адипоцитарного потенциала ученые оказались ближе к консенсусу. Спектр получаемых результатов несколько широк, тем не менее большинство исследователей приходят к выводу о снижении адипогенного потенциала при клеточном старении [91].

Наши собственные результаты однозначно свидетельствуют о снижении адипогенного потенциала МСК, выделенных из жировой ткани, при репликативном старении. На это указывает отсутствие выраженного образования липидных включений при дифференцировке. Обнаружено значительное снижение экспрессии гена ключевого транскрипционного регулятора *PPAR γ* , что, вероятно, лежит в основе данного феномена. С другой стороны, в той же работе отмечены признаки, указывающие на реципрокное повышение остеогенного потенциала, несмотря на снижение экспрессии генов некоторых позитивных регуляторов остеобластного пути (*BMP2*, *BMP6*, *IGF1*, *IL1B*). При этом увеличивалась выраженность кальцификации матрикса при дифференцировке и концентрация остеопротегерина, что может быть важно в контексте кальцификации атеросклеротических бляшек у пожилых людей. Транскрипционная активность ключевого регулятора остеогенеза (*RUNX2*) и ряда исследуемых генов-маркеров (*SPARC*, *SPP1*, *COL1A1*, *BGLAP*) при репликативном старении МСК оставалась стабильной [104]. Несмотря на усиление кальцификации матрикса, его морфология отличалась в «молодых» и сенесцентных культурах, что может указывать на ложноположительный результат вследствие выхода кальция [36, 90, 91]. В то же время обнаруженное повышение продукции остеопротегерина может указывать на проостеогенную паракринную активность сенесцентных МСК [104].

Вопрос об остеогенной дифференцировке в условиях ММГ приводит исследователей к большому согласию. Подавляющее большинство авторов сходятся во мнении, что микрогравитация способствует снижению остеогенного потенциала МСК [105]. В частности, эти эффекты продемонстрированы на МСК костного мозга крыс [94, 106] и человека [107, 108]. Эти результаты были подтверждены Saxena et al. [109], которые продемонстрировали, что ММГ ингибирует остеобластогенез и увеличивает адипоцитогенез МСК, инкубированных в остеогенных условиях. Они считают, что в этот процесс вовлечены сниженная активность RhoA и фосфорилирование кофилина, нарушение стрессовых волокон F-актина и снижение передачи сигналов интегрина через киназу фокальной адгезии. Другие авторы показали, что снижение остеобластогенеза в ММГ, по крайней мере частично, вызвано снижением передачи сигналов интегрин/MAPK [110].

Анализ транскриптома с использованием полногеномного микрочипа показал, что 882 гена были подавлены, а 505 генов активизированы после 24-часового ММГ. Отмечено значительное снижение экспрессии остеоцитарных и хондроцитарных генов и увеличение экспрессии адипоцитарных генов [111].

В более поздних исследованиях ученые заинтересовались и неканоничными направлениями дифференцировки. Так, ММГ может усиливать дифференцировку МСК в нейроны. Было обнаружено, что увеличивается экспрессия ряда соответствующих маркеров. Кроме того, повышалась секреция нейротрофинов, таких как фактор роста нервов (NGF), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) или цилиарный нейротрофический фактор (CNTF) [112]. В другом исследовании МСК крыс культивировали в течение 72 ч или 10 дней на клиностае с последующей экспансией в различных дифференциальных средах. Короткий период воздействия (72 ч) способствовал эндотелиальной, нейрональной и адипогенной дифференцировке. Длительное воздействие (10 дней) способствовало дифференцировке МСК в остеобласты, что неожиданно. Короткий период воздействия ММГ значительно снижал активность RhoA. Однако при увеличении длительности экспозиции этот показатель повышался. Эти результаты показали, что продолжительность ММГ регулирует дифференцировку МСК через RhoA-ассоциированный путь [113] и подтвердили результаты Saxena et al. [109], рассмотренные выше.

Таким образом, моделирование микрогравитации может в значительной степени повлиять на дифференцировочный потенциал МСК. По крайней мере в части остеогенной дифференцировки это влияние носит ингибирующий характер, что может объяснять и сходные физиологические последствия, касающиеся нарушения костного метаболизма.

Секреторная активность. Предполагается, что сенесцентные клетки могут способствовать поддержанию хронического воспаления и развитию заболеваний, ассоциированных со старением, поэтому изучение вопроса паракринной регуляции имеет большое значение. При старении клетки продолжают взаимодействовать со своим окружением и оказывать локальные и системные эффекты в первую очередь через паракринную регуляцию. Секреторный фенотип при клеточном старении значительно изменяется и даже получил отдельное название — SASP (senescence-associated secretory phenotype). Прежде всего, SASP характеризуется повышением провоспалительной части секретомы, хотя отдельные факторы могут значительно варьировать в зависимости от типа клеток и способа индукции сенесценции [36, 90, 91, 114].

Показано, что 20-дневная экспозиция на 2D-клиностае повышала содержание IL-8, одного из основных провоспалительных цитокинов МСК, в культуральной среде в 1,4–3,2 раза, а среднее увеличение продукции на RPM составило 1,5–6 раз (10 суток) и 1,6–2,1 раза (20 суток) соответственно. В работе использовали МСК, полученные из костного мозга человека [115]. Позже, исследования на МСК, полученных из жировой ткани человека, дополнили эти результаты. Оценка изменений паракринной активности при экспозиции на RPM в течение 96 ч показала увеличение продукции IL-8 и уменьшение IL-6. При этом отмечено повышение продукции VEGF, ключевого позитивного регулятора ангиогенеза [96].

В нашей работе продемонстрировано, что кондиционированная среда от МСК, подвергшихся воздействию RPM, стимулировала образование сети сосудов *in ovo*, капиллярно-подобной сети эндотелиальных клеток (ЭК) в матригеле и ненаправленную миграцию ЭК *in vitro*. Эти эффекты были обусловлены изменением экспрессии генов и белков, связанных с ангиогенезом. В том числе было обнаружено повышение уровня регуляторов ангиогенеза Serpin E1, Serpin F1, IGFBP, VEGF и IL-8, а также повышалась транскрипция генов, кодирующих факторы роста с проангиогенной

активностью, включая *VEGF-c* и *VEGF-a*. Эти данные свидетельствовали о том, что микрогравитация может оказывать МСК-опосредованное влияние на функциональное состояние ЭК [63].

В той же работе мы обнаружили повышенную транскрипционную активность нейротрофического фактора головного мозга, BDNF [63], подтвердив выводы Chen et al. [112] об усилении дифференцировки МСК в нейрон-подобные клетки при ММГ. Дополнительно была изучена терапевтическая эффективность культивируемых в условиях микрогравитации МСК после ишемически-реперфузионного повреждения спинного мозга. Отмечено большее количество BDNF-положительных астроцитов, уменьшенное количество каспаза-3-положительных апоптотических клеток и восстановление моторики, что свидетельствует о положительном регенеративном влиянии МСК после ММГ [116].

Важным с точки зрения оценки сенесцентного состояния прогениторных клеток является исследование провоспалительной составляющей. При оценке влияния ММГ на TNF α -опосредованное праймирование МСК из жировой ткани показано, что ММГ сама по себе не вызывает изменений экспрессии ICAM-1 и HLA-ABC на мембране, которые можно рассматривать как маркеры провоспалительной активации клеток. При этом был зарегистрирован ослабленный ответ МСК на праймирование TNF α при действии ММГ, что проявлялось в снижении продукции TNF α -зависимых плейотропных цитокинов (IL-8 и MCP-1), протеаз, ремоделирующих матрикс, и подавлении некоторых генов, кодирующих факторы роста и цитокины [117].

Помимо провоспалительных цитокинов, изучено влияние моделирования микрогравитации в течение 10 дней на паракринную активность остеокмитированных и интактных МСК. Реакция клеток на ММГ зависела от степени коммитированности. Ответ остеокмитированных МСК был менее выражен и проявлялся в увеличении продукции склеростина, негативного регулятора остеобластогенеза. В интактных МСК выявлено снижение уровня остеопротегерина. Эти изменения могут лежать в основе смещения костного гомеостаза в сторону резорбции кости [118]. Напомним, что при клеточном старении уровень остеопротегерина увеличивался [104].

Таким образом, можно отметить, что ММГ приводит к увеличению секреции провоспалительного IL-8, который, в свою очередь, может усиливать продукцию зависимых от него фак-

торов, таких как VEGF. Как показывают эксперименты, подобные изменения в секретоме могут быть рассмотрены на предмет использования в регенеративной медицине для повышения нейро- и ангиогенеза. Известно, что провоспалительный SASP сенесцентных клеток также может оказывать позитивное влияние на регенерацию ткани, а потенциальные негативные последствия могут быть реализованы лишь при его хроническом воздействии. Тем не менее говорить о большем сходстве ММГ и старения в контексте секретомы пока преждевременно.

Внеклеточный матрикс. Помимо непосредственно клеток и их паракринных медиаторов, важную роль в функционировании ткани играет внеклеточный матрикс (ВКМ). Он в значительной степени различается в зависимости от локализации и является посредником в межклеточных взаимодействиях. Взаимодействие клетки с ВКМ необходимо для ее нормального функционирования, включая пролиферацию и дифференцировку [119, 120]. Различные компоненты ВКМ выполняют специфические функции. Протеогликаны за счет молекулярного строения и наличия большого количества заряженных групп задерживают воду, депонируют метаболиты и ростовые факторы [121]. Белковые компоненты, такие как коллаген и фибронектин, обеспечивают механические свойства ткани, необходимые клеткам для поддержания формы, а также для миграции. Вместе с другими белками ВКМ, такими как эластин и ламинин, они обеспечивают эластичность матрикса.

Литературные данные указывают на изменения ВКМ сенесцентных клеток, связанные с их катаболическим фенотипом. Показано повышение экспрессии протеолитических ферментов (матриксных металлопротеиназ, адамализинов, урокиназ и катепсинов) и снижение продукции структурных компонентов ВКМ (коллагенов, гликопротеинов и протеогликанов). Это приводит к снижению эластичности тканей, повреждению базальной мембраны и увеличению жесткости ВКМ [122].

Основные направления исследований на данный момент заключаются в изучении эффектов ВКМ, продуцируемого молодыми и сенесцентными клетками, на функциональную активность клеточных элементов тканевой ниши. В работе Choi et al. [123] было показано, что сенесцентные фибробласты, которые высеивались на ВКМ от фибробластов на ранних пассажах, обладали сниженной экспрессией SA- β -gal, также отмечалось снижение уровня свободных радикалов, восстановление потен-

циала митохондрий и удлинение теломер. И, наоборот, показано снижение пролиферации «молодых» фибробластов, культивируемых на ВКМ от сенесцентных клеток [123].

В исследовании на МСК из мышинового костного мозга молодых (3 недели) и старых (18 недель) особей было установлено изменение в свойствах ВКМ. МСК от молодых и старых мышей высевались на децеллюляризованный матрикс от соответствующих групп клеток. При этом на ВКМ от молодых МСК уровень АФК снижался на 30–50% и у молодых, и у сенесцентных МСК по сравнению со «старым» ВКМ или пластиком [124]. Также показано, что культивирование сенесцентных МСК из синовиальной жидкости на децеллюляризованном фетальном матриксе усиливает способность МСК к хондро- и адиподифференцировке [125].

С точки зрения гравирецепции комплекс ВКМ–интегрин–цитоскелет является механо-чувствительной структурой, координирующей функциональное состояние клеток и тканей в гравитационном поле [68]. Группа Муои исследовала дифференцировку при клино-статировании [106]. МСК костного мозга крыс культивировали в порах пористого гидроксипатита кальция в течение 2 недель на 3D-клиностате. Активность щелочной фосфатазы (маркера остеобластной дифференцировки) была снижена на 40% по сравнению с контрольной группой. Имплантация композитов с МСК сингенным крысам показала, что костеобразование было значительно ниже при ММГ по сравнению с контрольной группой. Важно отметить, что при клино-статировании наблюдалось меньше внеклеточного матрикса. Вероятно, эти два факта могут быть связаны [106]. В более поздней работе отмечено, что ММГ увеличивала экспрессию молекул адгезии (ITGB1, CD44), протеазы MMP1 и одного из коллагенов (ColIII) в МСК. Известно, что MMP1 расщепляет интерстициальные коллагены, включая ColIII. Вероятно, авторы наблюдали реакцию компенсации. Экспрессия генов *FBN1* и *VIM* при этом была снижена. *FBN1* представляет собой гликопротеин внеклеточного матрикса и необходим для образования эластических волокон. *VIM* является основным промежуточным филаментом цитоскелета стромальных предшественников [126].

Недавние исследования в нашей лаборатории дополнили полученные ранее результаты. Показано, что 10-дневная экспозиция на RPM приводит к снижению содержания коллагеновых компонентов ВКМ, вероятно, за счет снижения синтеза коллагена и активации

протеаз. Представленные данные показывают, что ассоциированные с ВКМ молекулы как нативных, так и остеоккомитированных МСК могут участвовать в реорганизации костного матрикса во время космического полета [127].

Полетные эксперименты на Foton 10 продемонстрировали подавление основного структурного белка COL1A в остеобластной линии MG-63. В эксперименте на SJ-10 после 2 дней полета наблюдалось подавление нескольких генов, кодирующих структурные белки матрикса, и повышение экспрессии MMP1 в МСК костного мозга. Ингибирующее действие на COL1A2 было обнаружено в той же миссии через 5 дней. На основании бортовых экспериментов можно сделать вывод, что микрогравитация негативно влияет на структурные белки матрикса на транскрипционном уровне [128, 129].

Несложно проследить некоторую схожесть изменений при активации сенесценции и при ММГ. В обоих случаях продуцируется меньшее количество ВКМ и усиливается протеазная активность. Вероятно, существует связь между деградацией матрикса и остеогенной дифференцировкой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие физиологических/патофизиологических изменений у человека во время длительных космических полетов может являться проявлением «атрофического синдрома», описанного неоднократно G. Libertini [130]. Этот синдром характеризуется снижением способности клеток к удвоению, уменьшением числа клеток, заменой специфических клеток неспецифическими, гипертрофией оставшихся специфических клеток, изменением функционирования клеток с укороченными теломерами, изменением клеточного микроокружения в зависимости от состояния сенесцентных клеток [130]. Этот атрофический синдром, вызванный отсутствием опорной нагрузки, в настоящий момент является обратимым для условий полета не более года и при выполнении довольно широкого спектра профилактических мероприятий на борту орбитальных космических станций. Существуют ли пороговые значения снижения гравитации или предельно допустимое время пребывания в безопорной среде без средств профилактики, ниже которых основные физиологические системы будут терять свой функциональный потенциал по аналогии со старением, утверждать, на наш взгляд, невозможно.

Кроме этого, практически ничего не известно о влиянии микрогравитации на продолжительность жизни организмов различного уровня организации, включая млекопитающих.

Подводя некоторые итоги анализа влияния микрогравитации на клетки и сравнения выявленных эффектов с изменениями, ассоциированными со старением, необходимо отметить, что микрогравитация, вероятно, может инициировать начальные стадии стресс-индуцированных реакций. Некоторые рассмотренные работы прямо указывают на сходство механизмов, лежащих в основе ответа на микрогравитацию и сенесценцию. Даже при коротких экспозициях эти сдвиги могут вызвать снижения пролиферации, смещение направления дифференцировки, изменения секреторного профиля, включая паракринные медиаторы и ВКМ-ассоциированные молекулы. При этом, во-первых, остается открытым вопрос об обратимости сдвигов, обнаруженных при моделировании микрогравитации, поскольку обратимость этих сдвигов не позволит прямо говорить

о сенесценции. А, во-вторых, необходимо отметить, что подавляющее большинство экспериментальных исследований, доказывающих возможность активации сенесцентного состояния клеток *in vitro*, используют короткие экспозиции (24–72 ч), что явно недостаточно для реализации программы клеточного старения.

Вклад авторов. Л.Б. – исходная концепция, Л.Б. и А.Ю. – написание рукописи, сравнительный анализ обсуждаемых эффектов микрогравитации и старения.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН (тема 65.3) и Российского научного фонда (грант № 21-75-10117) в равных долях.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Demontis, G. C., Germani, M. M., Caiani, E. G., Barravecchia, I., Passino, C., and Angeloni, D. (2017) Human pathophysiological adaptations to the space environment, *Front. Physiol.*, **8**, 547, doi: 10.3389/fphys.2017.00547.
- Tran, K. N., and Choi, J. I. (2022) Mimic microgravity effect on muscle transcriptome under ionizing radiation, *Life Sci. Space Res.*, **32**, 96-104, doi: 10.1016/j.lssr.2021.12.002.
- Patel, S. (2020) The effects of microgravity and space radiation on cardiovascular health: from low-Earth orbit and beyond, *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.*, **30**, 100595, doi: 10.1016/j.ijcha.2020.100595.
- Vernikos, J., and Schneider, V. S. (2010) Space, gravity and the physiology of aging: parallel or convergent disciplines? A mini-review, *Gerontology*, **56**, 157-166, doi: 10.1159/000252852.
- Wang, E. (1999) Age-dependent atrophy and microgravity travel: what do they have in common? *FASEB J.*, **13**, S167-S174, doi: 10.1096/fasebj.13.9001.s167.
- Biolo, G., Heer, M., Narici, M., and Strollo, F. (2003) Microgravity as a model of ageing, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **6**, 31-40, doi: 10.1097/00075197-200301000-00006.
- Strollo, F., Gentile, S., Strollo, G., Mambro, A., and Vernikos, J. (2018) Recent progress in space physiology and aging, *Front. Physiol.*, **9**, 1551, doi: 10.3389/fphys.2018.01551.
- Burger, E. H., and Klein-Nulend, J. (1998) Microgravity and bone cell mechanosensitivity, *Bone*, **22**, 127S-130S, doi: 10.1016/s8756-3282(98)00010-6.
- Keune, J. A., Branscum, A. J., Iwaniec, U. T., and Turner, R. T. (2015) Effects of spaceflight on bone microarchitecture in the axial and appendicular skeleton in growing ovariectomized rats, *Sci. Rep.*, **5**, 18671, doi: 10.1038/srep18671.
- Gerbaix, M., Gnyubkin, V., Farlay, D., Olivier, C., Ammann, P., Courbon, G., Laroche, N., Genthial, R., Follet, H., Peyrin, F., Shenkman, B., Gauquelin-Koch, G., and Vico, L. (2017) One-month spaceflight compromises the bone microstructure, tissue-level mechanical properties, osteocyte survival and lacunae volume in mature mice skeletons, *Sci. Rep.*, **7**, 2659, doi: 10.1038/s41598-017-03014-2.
- Stavnichuk, M., Mikolajewicz, N., Corlett, T., Morris, M., and Komarova, S. V. (2020) A systematic review and meta-analysis of bone loss in space travelers, *NPJ Microgravity*, **6**, 13, doi: 10.1038/s41526-020-0103-2.
- Crucian, B., Simpson, R. J., Mehta, S., Stowe, R., Chouker, A., Hwang, S. A., Actor, J. K., Salam, A. P., Pierson, D., and Sams, C. (2014) Terrestrial stress analogs for spaceflight associated immune system dysregulation, *Brain Behav. Immun.*, **39**, 23-32, doi: 10.1016/j.bbi.2014.01.011.
- Sofronova, S. I., Tarasova, O. S., Gaynullina, D., Borzykh, A. A., Behnke, B. J., Stabley, J. N.,

- McCullough, D. J., Maraj, J. J., Hanna, M., Muller-Delp, J. M., Vinogradova, O. L., and Delp, M. D. (2015) Spaceflight on the Bion-M1 biosatellite alters cerebral artery vasomotor and mechanical properties in mice, *J. Appl. Physiol.*, **118**, 830-838, doi: 10.1152/jappphysiol.00976.2014.
14. Hughson, R. L., Yee, N. J., and Greaves, D. K. (2016) Elevated end-tidal Pco₂ during long-duration spaceflight, *Aerospace Med. Hum. Perform.*, **87**, 894-897, doi: 10.3357/AMHP.4598.2016.
15. Shen, H., Lim, C., Schwartz, A. G., Andreev-Andrievskiy, A., Deymier, A. C., and Thomopoulos, S. (2017) Effects of spaceflight on the muscles of the murine shoulder, *FASEB J.*, **31**, 5466-5477, doi: 10.1096/fj.201700320R.
16. Novikov, V. E., and Ilyin, E. A. (1981) Age-related reactions of rat bones to their unloading, *Aviat. Space Environ. Med.*, **52**, 551-553.
17. Strollo, F., Riondino, G., Harris, B., Strollo, G., Casarosa, E., Mangrossa, N., Ferretti, C., and Luisi, M. (1998) The effect of microgravity on testicular androgen secretion, *Aviat. Space Environ. Med.*, **69**, 133-136.
18. Blaber, E. A., Dvorochkin, N., Lee, C., Alwood, J. S., Yousuf, R., Pianetta, P., Globus, R. K., Burns, B. P., and Almeida, E. A. (2013) Microgravity induces pelvic bone loss through osteoclastic activity, osteocytic osteolysis, and osteoblastic cell cycle inhibition by CDKN1a/p21, *PLoS One*, **8**, e61372, doi: 10.1371/journal.pone.0061372.
19. Luxton, J. J., McKenna, M. J., Lewis, A., Taylor, L. E., George, K. A., Dixit, S. M., Moniz, M., Benegas, W., Mackay, M. J., Mozsary, C., Butler, D., Bezdan, D., Meydan, C., Crucian, B. E., Zwart, S. R., Smith, S. M., Mason, C. E., and Bailey, S. M. (2020) Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight, *Cell Rep.*, **33**, 108457, doi: 10.1016/j.celrep.2020.108457.
20. Zhuikova, S. E., and Nagovitsyn, R. S. (2021) Influence of running on some physiological and molecular biological markers of human aging, *Hum. Physiol.*, **47**, 587-594, doi: 10.1134/S0362119721050133.
21. Simoes, H. G., Sousa, C. V., Dos Santos Rosa, T., da Silva Aguiar, S., Deus, L. A., Rosa, E. C. C. C., Amato, A. A., and Andrade, R. V. (2017) Longer telomere length in elite master sprinters: relationship to performance and body composition, *Int. J. Sports Med.*, **38**, 1111-1116, doi: 10.1055/s-0043-120345.
22. Prasad, B., Grimm, D., Strauch, S. M., Erzinger, G. S., Corydon, T. J., Lebert, M., Magnusson, N. E., Infanger, M., Richter, P., and Krüger, M. (2020) Influence of microgravity on apoptosis in cells, tissues, and other systems *in vivo* and *in vitro*, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 9373, doi: 10.3390/ijms21249373.
23. Fernando, H. J., and Bowers, D. (2021) Neuroendocrine Theory of Aging, in *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging* (Gu, D., and Dupre, M. E., eds) Springer, Cham, doi: 10.1007/978-3-030-22009-9_673.
24. Dilman, V. M., Revskoy, S. Y., and Golubev, A. G. (1986) Neuroendocrine-ontogenetic mechanism of aging: toward an integrated theory of aging, *Int. Rev. Neurobiol.*, **28**, 89-156, doi: 10.1016/s0074-7742(08)60107-5.
25. Olovnikov, A. (2005) Lunasensor, infradian rhythms, telomeres, and the chromomere program of aging, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1057**, 112-132, doi: 10.1196/annals.1356.006.
26. Olovnikov, A. M. (2015) Chronographic theory of development, aging, and origin of cancer: role of chromomeres and printomeres, *Curr. Aging Sci.*, **8**, 76-88, doi: 10.2174/1874609808666150422114916.
27. Olovnikov, A. M. (2022) Planetary metronome as a regulator of lifespan and aging rate: the metronomic hypothesis, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1640-1650, doi: 10.1134/S0006297922120197.
28. Horvath, S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types, *Genome Biol.*, **14**, R115, doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115.
29. Petkovich, D. A., Podolskiy, D. I., Lobanov, A. V., Lee, S. G., Miller, R. A., and Gladyshev, V. N. (2017) Using DNA methylation profiling to evaluate biological age and longevity interventions, *Cell Metab.*, **25**, 954-960.e6, doi: 10.1016/j.cmet.2017.03.016.
30. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., and Kroemer, G. (2013) The hallmarks of aging, *Cell*, **153**, 1194-1217, doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
31. McHugh, D., and Gil, J. (2018) Senescence and aging: causes, consequences, and therapeutic avenues, *J. Cell Biol.*, **217**, 65-77, doi: 10.1083/jcb.201708092.
32. Campisi, J., and d'Adda di Fagagna, F. (2007) Cellular senescence: when bad things happen to good cells, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 729-740, doi: 10.1038/nrm2233.
33. Ratushnyy, A. Y., Rudimova, Y. V., and Buravkova, L. B. (2020) Replicative senescence and expression of autophagy genes in mesenchymal stromal cells, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 1169-1177, doi: 10.1134/S0006297920100053.
34. Kuilman, T., Michaloglou, C., Mooi, W. J., and Peeper, D. S. (2010) The essence of senescence, *Genes Dev.*, **24**, 2463-2479, doi: 10.1101/gad.1971610.
35. Salama, R., Sadaie, M., Hoare, M., and Narita, M. (2014) Cellular senescence and its effector programs, *Genes Dev.*, **28**, 99-114, doi: 10.1101/gad.235184.113.
36. Ratushnyy, A. Y., and Buravkova, L. B. (2020) Cell senescence and mesenchymal stromal cells, *Hum. Physiol.*, **46**, 85-93, doi: 10.1134/S0362119720010132.
37. Imai, S., and Guarente, L. (2014) NAD⁺ and sirtuins in aging and disease, *Trends Cell Biol.*, **24**, 464-471, doi: 10.1016/j.tcb.2014.04.002.
38. Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E. E., Linskens, M., Rubelj, I.,

- and Pereira-Smith, O. (1995) A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 9363-9367, doi: 10.1073/pnas.92.20.9363.
39. Narita, M., Nunez, S., Heard, E., Narita, M., Lin, A. W., Hearn, S. A., Spector, D. L., Hannon, G. J., and Lowe, S. W. (2003) Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence, *Cell*, **113**, 703-716, doi: 10.1016/s0092-8674(03)00401-x.
40. Collado, M., Blasco, M. A., and Serrano, M. (2007) Cellular senescence in cancer and aging, *Cell*, **130**, 223-233, doi: 10.1016/j.cell.2007.07.003.
41. Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, **144**, 646-674, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
42. Jun, J. I., and Lau, L. F. (2010) The matricellular protein Ccn1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing, *Nat. Cell Biol.*, **12**, 676-685, doi: 10.1038/ncb2070.
43. Noronha, N. C., Mizukami, A., Caliári-Oliveira, C., Cominal, J. G., Rocha, J. L. M., Covas, D. T., Swiech, K., and Malmegrim, K. C. R. (2019) Priming approaches to improve the efficacy of mesenchymal stromal cell-based therapies, *Stem Cell Res. Ther.*, **10**, 131, doi: 10.1186/s13287-019-1224-y.
44. Hayflick, L., and Moorhead, P. S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, **25**, 585-621, doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.
45. Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **201**, 1496-1499.
46. Victorelli, S., and Passos, J. F. (2017) Telomeres and cell senescence – size matters not, *EBioMedicine*, **21**, 14-20, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.03.027.
47. De Magalhães, J. P., and Passos, J. F. (2018) Stress, cell senescence and organismal ageing, *Mech. Ageing Dev.*, **170**, 2-9, doi: 10.1016/j.mad.2017.07.001.
48. Gruber, J., Schaffer, S., and Halliwell, B. (2008) The mitochondrial free radical theory of ageing – where do we stand? *Front. Biosci.*, **13**, 6554-6579, doi: 10.2741/3174.
49. Vizioli, M. G., Liu, T., Miller, K. N., Robertson, N. A., Gilroy, K., Lagnado, A. B., Perez-Garcia, A., Kiourtis, C., Dasgupta, N., Lei, X., Kruger, P. J., Nixon, C., Clark, W., Jurk, D., Bird, T. G., Passos, J. F., Berger, S. L., Dou, Z., and Adams, P. D. (2020) Mitochondria-to-nucleus retrograde signaling drives formation of cytoplasmic chromatin and inflammation in senescence, *Genes Dev.*, **34**, 428-445, doi: 10.1101/gad.331272.119.
50. Von Zglinicki, T. (2002) Oxidative stress shortens telomeres, *Trends Biochem. Sci.*, **27**, 339-344, doi: 10.1016/s0968-0004(02)02110-2.
51. Campisi, J. (2013) Aging, cellular senescence, and cancer, *Annu. Rev. Physiol.*, **75**, 685-705, doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183653.
52. Sherr, C. J., and Roberts, J. M. (1999) CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression, *Genes Dev.*, **13**, 1501-1512, doi: 10.1101/gad.13.12.1501.
53. Sherr, C. J., and McCormick, F. (2002) The RB and p53 pathways in cancer, *Cancer Cell*, **2**, 103-112, doi: 10.1016/s1535-6108(02)00102-2.
54. Tharp, K. M., Higuchi-Sanabria, R., Timblin, G. A., Ford, B., Garzon-Coral, C., Schneider, C., Muncie, J. M., Stashko, C., Daniele, J. R., Moore, A. S., Frankino, P. A., Homentcovschi, S., Manoli, S. S., Shao, H., Richards, A. L., Chen, K. H., Hoeve, J. T., Ku, G. M., Hellerstein, M., Nomura, D. K., et al. (2021) Adhesion-mediated mechanosignaling forces mitohormesis, *Cell Metab.*, **33**, 1322-1341.e13, doi: 10.1016/j.cmet.2021.04.017.
55. Duan, J. L., Ruan, B., Song, P., Fang, Z. Q., Yue, Z. S., Liu, J. J., Dou, G. R., Han, H., and Wang, L. (2022) Shear stress-induced cellular senescence blunts liver regeneration through Notch-sirtuin 1-P21/P16 axis, *Hepatology*, **75**, 584-599, doi: 10.1002/hep.32209.
56. Van Loon, J. W. A. (2007) Some history and use of the random positioning machine, RPM, in gravity related research, *Adv. Space Res.*, **39**, 1161-1165, doi: 10.1016/j.asr.2007.02.016.
57. Kopp, S., Warnke, E., Wehland, M., Aleshcheva, G., Magnusson, N. E., Hemmersbach, R., Corydon, T. J., Bauer, J., Infanger, M., and Grimm, D. (2015) Mechanisms of three-dimensional growth of thyroid cells during long-term simulated microgravity, *Sci. Rep.*, **5**, 16691, doi: 10.1038/srep16691.
58. Wuest, S. L., Richard, S., Kopp, S., Grimm, D., and Egli, M. (2015) Simulated microgravity: critical review on the use of random positioning machines for mammalian cell culture, *BioMed Res. Int.*, **2015**, 971474, doi: 10.1155/2015/971474.
59. Wang, J., Zhang, J., Bai, S., Wang, G., Mu, L., Sun, B., Wang, D., Kong, Q., Liu, Y., Yao, X., Xu, Y., and Li, H. (2009) Simulated microgravity promotes cellular senescence via oxidant stress in rat PC12 cells, *Neurochem. Int.*, **55**, 710-716, doi: 10.1016/j.neuint.2009.07.002.
60. Kapitonova, M. Y., Muid, S., Froemming, G. R., Yusoff, W. N., Othman, S., Ali, A. M., and Nawawi, H. M. (2012) Real space flight travel is associated with ultrastructural changes, cytoskeletal disruption and premature senescence of HUVEC, *Malays. J. Pathol.*, **34**, 103-113.
61. Ulbrich, C., Wehland, M., Pietsch, J., Aleshcheva, G., Wise, P., van Loon, J., Magnusson, N., Infanger, M., Grosse, J., Eilles, C., Sundaresan, A., and Grimm, D. (2014) The impact of simulated and real microgravity on bone cells and mesenchymal stem cells, *BioMed Res. Int.*, **2014**, 928507, doi: 10.1155/2014/928507.
62. Winkelmaier, G., Jabbari, K., Chien, L. C., Grabham, P., Parvin, B., and Pluth, J. (2023) Influence of simulated microgravity on mammary epithelial cells grown

- as 2D and 3D cultures, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 7615, doi: 10.3390/ijms24087615.
63. Ratushnyy, A., Ezdakova, M., Yakubets, D., and Buravkova, L. (2018) Angiogenic activity of human adipose-derived mesenchymal stem cells under simulated microgravity, *Stem Cells Dev.*, **27**, 831-837, doi: 10.1089/scd.2017.0262.
 64. Ingber, D. E. (2003) Mechanobiology and diseases of mechanotransduction, *Ann. Med.*, **35**, 564-577, doi: 10.1080/07853890310016333.
 65. Louis, F., Deroanne, C., Nusgens, B., Vico, L., and Guignandon, A. (2015) RhoGTPases as key players in mammalian cell adaptation to microgravity, *BioMed Res. Int.*, **2015**, 747693, doi: 10.1155/2015/747693.
 66. Mao, X., Chen, Z., Luo, Q., Zhang, B., and Song, G. (2016) Simulated microgravity inhibits the migration of mesenchymal stem cells by remodeling actin cytoskeleton and increasing cell stiffness, *Cytotechnology*, **68**, 2235-2243, doi: 10.1007/s10616-016-0007-x.
 67. Ratushnyy, A. Y., and Buravkova, L. B. (2017) Expression of focal adhesion genes in mesenchymal stem cells under simulated microgravity, *Dokl. Biochem. Biophys.*, **477**, 354-356, doi: 10.1134/S1607672917060035.
 68. Buravkova, L., Larina, I., Andreeva, E., and Grigoriev, A. (2021) Microgravity effects on the matrixome, *Cells*, **10**, 2226, doi: 10.3390/cells10092226.
 69. Dinarelli, S., Longo, G., Dietler, G., Francioso, A., Mosca, L., Pannitteri, G., Boumis, G., Bellelli, A., and Girasole, M. (2018) Erythrocyte's aging in microgravity highlights how environmental stimuli shape metabolism and morphology, *Sci. Rep.*, **8**, 5277, doi: 10.1038/s41598-018-22870-0.
 70. Takahashi, H., Nakamura, A., and Shimizu, T. (2021) Simulated microgravity accelerates aging of human skeletal muscle myoblasts at the single cell level, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **578**, 115-121, doi: 10.1016/j.bbrc.2021.09.037.
 71. Acharya, A., Nemade, H., Papadopoulos, S., Hescheler, J., Neumaier, F., Schneider, T., Rajendra Prasad, K., Khan, K., Hemmersbach, R., Gusmao, E. G., Mizi, A., Papantonis, A., and Sachinidis, A. (2022) Microgravity-induced stress mechanisms in human stem cell-derived cardiomyocytes, *iScience*, **25**, 104577, doi: 10.1016/j.isci.2022.104577.
 72. Singh, R., Rajput, M., and Singh, R. P. (2021) Simulated microgravity triggers DNA damage and mitochondria-mediated apoptosis through ROS generation in human promyelocytic leukemic cells, *Mitochondrion*, **61**, 114-124, doi: 10.1016/j.mito.2021.09.006.
 73. Kossmehl, P., Shakibaei, M., Cogoli, A., Infanger, M., Curcio, F., Schönberger, J., Eilles, C., Bauer, J., Pickenhahn, H., Schulze-Tanzil, G., Paul, M., and Grimm, D. (2003) Weightlessness induced apoptosis in normal thyroid cells and papillary thyroid carcinoma cells via extrinsic and intrinsic pathways, *Endocrinology*, **144**, 4172-4179, doi: 10.1210/en.2002-0171.
 74. Ran, F., An, L., Fan, Y., Hang, H., and Wang, S. (2016) Simulated microgravity potentiates generation of reactive oxygen species in cells, *Biophys. Rep.*, **2**, 100-105, doi: 10.1007/s41048-016-0029-0.
 75. Greco, O., Durante, M., Gialanella, G., Grossi, G., Pugliese, M., Scampoli, P., Snigiryova, G., and Obe, G. (2003) Biological dosimetry in Russian and Italian astronauts, *Adv. Space Res.*, **31**, 1495-1503, doi: 10.1016/s0273-1177(03)00087-5.
 76. Lu, T., Zhang, Y., Kidane, Y., Feiveson, A., Stodieck, L., Karouia, F., Ramesh, G., Rohde, L., and Wu, H. (2017) Cellular responses and gene expression profile changes due to bleomycin-induced DNA damage in human fibroblasts in space, *PLoS One*, **12**, e0170358, doi: 10.1371/journal.pone.0170358.
 77. Murphy, M. B., Moncivais, K., and Caplan, A. I. (2013) Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine, *Exp. Mol. Med.*, **45**, e54, doi: 10.1038/emm.2013.94.
 78. Spees, J. L., Lee, R. H., and Gregory, C. A. (2016) Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function, *Stem Cell Res. Ther.*, **7**, 125, doi: 10.1186/s13287-016-0363-7.
 79. Andreeva, E., Bobyleva, P., Gornostaeva, A., and Buravkova, L. (2017) Interaction of multipotent mesenchymal stromal and immune cells: bidirectional effects, *Cytotherapy*, **19**, 1152-1166, doi: 10.1016/j.jcyt.2017.07.001.
 80. Fujii, S., and Miura, Y. (2022) Immunomodulatory and regenerative effects of MSC-derived extracellular vesicles to treat acute GVHD, *Stem Cells*, **40**, 977-990, doi: 10.1093/stmcls/sxac057.
 81. Lv, W., Peng, X., Tu, Y., Shi, Y., Song, G., and Luo, Q. (2023) YAP inhibition alleviates simulated microgravity-induced mesenchymal stem cell senescence via targeting mitochondrial dysfunction, *Antioxidants*, **12**, 990, doi: 10.3390/antiox12050990.
 82. Moretta, L., Uccelli, A., and Pistoia, V. (2015) Mesenchymal stromal cells and immunity: Introductory overview, *Immunol. Lett.*, **168**, 127-128, doi: 10.1016/j.imllet.2015.08.010.
 83. Yatagai, F., Honma, M., Dohmae, N., and Ishioka, N. (2019) Biological effects of space environmental factors: A possible interaction between space radiation and microgravity, *Life Sci. Space Res.*, **20**, 113-123, doi: 10.1016/j.lssr.2018.10.004.
 84. Moya, I. M., and Halder, G. (2019) Hippo-YAP/TAZ signalling in organ regeneration and regenerative medicine, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **20**, 211-226, doi: 10.1038/s41580-018-0086-y.
 85. Pobbati, A. V., and Hong, W. (2020) A combat with the YAP/TAZ-TEAD oncoproteins for cancer therapy, *Theranostics*, **10**, 3622-3635, doi: 10.7150/thno.40889.
 86. Childs, B. G., Gluscevic, M., Baker, D. J., Laberge, R. M., Marquess, D., Dananberg, J., and van Deursen, J. M.

- (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **16**, 718-735, doi: 10.1038/nrd.2017.116.
87. Xie, Q., Chen, J., Feng, H., Peng, S., Adams, U., Bai, Y., Huang, L., Li, J., Huang, J., Meng, S., and Yuan, Z. (2013) YAP/TEAD-mediated transcription controls cellular senescence, *Cancer Res.*, **73**, 3615-3624, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3793.
88. Yeung, Y. T., Guerrero-Castilla, A., Cano, M., Muñoz, M. F., Ayala, A., and Argüelles, S. (2019) Dysregulation of the hippo pathway signaling in aging and cancer, *Pharmacol. Res.*, **143**, 151-165, doi: 10.1016/j.phrs.2019.03.018.
89. Pala, R., Cruciani, S., Manca, A., Garroni, G., El Faqir, M. A., Lentini, V., Capobianco, G., Pantaleo, A., and Maioli, M. (2023) Mesenchymal stem cell behavior under microgravity: from stress response to a premature senescence, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 7753, doi: 10.3390/ijms24097753.
90. Turinetti, V., Vitale, E., and Giachino, C. (2016) Senescence in human mesenchymal stem cells: functional changes and implications in stem cell-based therapy, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 1164, doi: 10.3390/ijms17071164.
91. Li, Y., Wu, Q., Wang, Y., Li, L., Bu, H., and Bao, J. (2017) Senescence of mesenchymal stem cells (Review), *Int. J. Mol. Sci.*, **39**, 775-782, doi: 10.3892/ijmm.2017.2912.
92. Merzlikina, N. V., Buravkova, L. B., and Romanov, Y. A. (2004) The primary effects of clinorotation on cultured human mesenchymal stem cells, *J. Gravitat. Physiol.*, **11**, P193-P194.
93. Gershovich, J. G., and Buravkova, L. B. (2007) Morphofunctional status and osteogenic differentiation potential of human mesenchymal stromal precursor cells during in vitro modeling of microgravity effects, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **144**, 608-613, doi: 10.1007/s10517-007-0387-1.
94. Dai, Z. Q., Wang, R., Ling, S. K., Wan, Y. M., and Li, Y. H. (2007) Simulated microgravity inhibits the proliferation and osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells, *Cell Prolif.*, **40**, 671-684, doi: 10.1111/j.1365-2184.2007.00461.x.
95. Yuge, L., Kajiume, T., Tahara, H., Kawahara, Y., Umeda, C., Yoshimoto, R., Wu, S. L., Yamaoka, K., Asashima, M., Kataoka, K., and Ide, T. (2006) Microgravity potentiates stem cell proliferation while sustaining the capability of differentiation, *Stem Cells Dev.*, **15**, 921-929, doi: 10.1089/scd.2006.15.921.
96. Ratushnyy, A. Yu., and Buravkova, L. B. (2016) Functional state of multipotent mesenchymal stromal cells during modeling the effects of microgravity [in Russian], *Aviakosm. Ekol. Med.*, **50**, 24-29.
97. Nakamura, H., Kumei, Y., Morita, S., Shimokawa, H., Ohya, K., and Shinomiya, K. (2003) Antagonism between apoptotic (Bax/Bcl-2) and anti-apoptotic (IAP) signals in human osteoblastic cells under vector-averaged gravity condition, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1010**, 143-147, doi: 10.1196/annals.1299.023.
98. Kim, M., Kim, C., Choi, Y. S., Kim, M., Park, C., and Suh, Y. (2012) Age-related alterations in mesenchymal stem cells related to shift in differentiation from osteogenic to adipogenic potential: implication to age-associated bone diseases and defects, *Mech. Ageing Dev.*, **133**, 215-225, doi: 10.1016/j.mad.2012.03.014.
99. Despars, G., Carbonneau, C. L., Bardeau, P., Coutu, D. L., and Beauséjour, C. M. (2013) Loss of the osteogenic differentiation potential during senescence is limited to bone progenitor cells and is dependent on p53, *PLoS One*, **8**, e73206, doi: 10.1371/journal.pone.0073206.
100. Yang, Y. K., Ogando, C. R., Wang See, C., Chang, T. Y., and Barabino, G. A. (2018) Changes in phenotype and differentiation potential of human mesenchymal stem cells aging *in vitro*, *Stem Cell Res. Ther.*, **9**, 131, doi: 10.1186/s13287-018-0876-3.
101. Wagner, W., Horn, P., Castoldi, M., Diehlmann, A., Bork, S., Saffrich, R., Benes, V., Blake, J., Pfister, S., Eckstein, V., and Ho, A. D. (2008) Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process, *PLoS One*, **3**, e2213, doi: 10.1371/journal.pone.0002213.
102. Digirolamo, C. M., Stokes, D., Colter, D., Phinney, D. G., Class, R., and Prockop, D. J. (1999) Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate, *Br. J. Haematol.*, **107**, 275-281, doi: 10.1046/j.1365-2141.1999.01715.x.
103. Cheng, H., Qiu, L., Ma, J., Zhang, H., Cheng, M., Li, W., Zhao, X., and Liu, K. (2011) Replicative senescence of human bone marrow and umbilical cord derived mesenchymal stem cells and their differentiation to adipocytes and osteoblasts, *Mol. Biol. Rep.*, **38**, 5161-5168, doi: 10.1007/s11033-010-0665-2.
104. Ratushnyy, A. Yu., and Buravkova, L. B. (2022) Differentiation potential of the mesenchymal stromal cells during replicative senescence [in Russian], *Aviakosm. Ekol. Med.*, **56**, 64-69.
105. Buravkova, L. B., Gershovich, P. M., Gershovich, J. G., and Grigor'ev, A. I. (2010) Mechanisms of gravitational sensitivity of osteogenic precursor cells, *Acta Naturae*, **2**, 28-36, doi: 10.32607/actanaturae.10734.
106. Nishikawa, M., Ohgushi, H., Tamai, N., Osuga, K., Uemura, M., Yoshikawa, H., and Myoui, A. (2005) The effect of simulated microgravity by three-dimensional clinostat on bone tissue engineering, *Cell Transplant.*, **14**, 829-835, doi: 10.3727/000000005783982477.
107. Zayzafoon, M., Gathings, W. E., and McDonald, J. M. (2004) Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis, *Endocrinology*, **145**, 2421-2432, doi: 10.1210/en.2003-1156.

108. Buravkova, L. B., Gershovich, P. M., Gershovich, J. G., and Grigoriev, A. I. (2013) Microgravity and mesenchymal stem cell response, *Curr. Biotechnol.*, **2**, 217-225, doi: 10.2174/22115501113029990016.
109. Saxena, R., Pan, G., and McDonald, J. M. (2007) Osteoblast and osteoclast differentiation in modeled microgravity, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1116**, 494-498, doi: 10.1196/annals.1402.033.
110. Meyers, V. E., Zayzafoon, M., Gonda, S. R., Gathings, W. E., and McDonald, J. M. (2004) Modeled microgravity disrupts collagen I/integrin signaling during osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells, *J. Cell. Biochem.*, **93**, 697-707, doi: 10.1002/jcb.20229.
111. Sheyn, D., Pelled, G., Netanel, D., Domany, E., and Gazit, D. (2010) The effect of simulated microgravity on human mesenchymal stem cells cultured in an osteogenic differentiation system: a bioinformatics study, *Tissue Eng. Part A*, **16**, 3403-3412, doi: 10.1089/ten.tea.2009.0834.
112. Chen, J., Liu, R., Yang, Y., Li, J., Zhang, X., Li, J., Wang, Z., and Ma, J. (2011) The simulated microgravity enhances the differentiation of mesenchymal stem cells into neurons, *Neurosci. Lett.*, **505**, 171-175, doi: 10.1016/j.neulet.2011.10.014.
113. Xue, L., Li, Y., and Chen, J. (2017) Duration of simulated microgravity affects the differentiation of mesenchymal stem cells, *Mol. Med. Rep.*, **15**, 3011-3018, doi: 10.3892/mmr.2017.6357.
114. Coppé, J. P., Desprez, P. Y., Krtolica, A., and Campisi, J. (2010) The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression, *Annu. Rev. Pathol.*, **5**, 99-118, doi: 10.1146/annurev-pathol-121808-102144.
115. Gershovich, Iu. G., and Buravkova, L. B. (2009) Interleukine production in culture of mesenchymal stromal cells of humans during simulation of the microgravity effects [in Russian], *Aviakosm. Ecol. Med.*, **43**, 44-50.
116. Kurose, T., Takahashi, S., Otsuka, T., Nakagawa, K., Imura, T., Sueda, T., and Yuge, L. (2019) Simulated microgravity-cultured mesenchymal stem cells improve recovery following spinal cord ischemia in rats, *Stem Cell Res.*, **41**, 101601, doi: 10.1016/j.scr.2019.101601.
117. Ratushnyy, A., Yakubets, D., Andreeva, E., and Buravkova, L. (2019) Simulated microgravity modulates the mesenchymal stromal cell response to inflammatory stimulation, *Sci. Rep.*, **9**, 9279, doi: 10.1038/s41598-019-45741-8.
118. Zhivodernikov, I. V., Ratushnyy, A. Y., and Buravkova, L. B. (2021) Secretory activity of mesenchymal stromal cells with different degree of commitment under conditions of simulated microgravity, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **170**, 560-564, doi: 10.1007/s10517-021-05106-6.
119. Aamodt, J. M., and Grainger, D. W. (2016) Extracellular matrix-based biomaterial scaffolds and the host response, *Biomaterials*, **86**, 68-82, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.02.003.
120. Choudhury, D., Tun, H. W., Wang, T., and Naing, M. W. (2018) Organ-derived decellularized extracellular matrix: a game changer for bioink manufacturing? *Trends Biotechnol.*, **36**, 787-805, doi: 10.1016/j.tibtech.2018.03.003.
121. Hospodiuk, M., Dey, M., Sosnoski, D., and Ozbolat, I. T. (2017) The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials, *Biotechnol. Adv.*, **35**, 217-239, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.12.006.
122. Mavrogenatou, E., Pratsinis, H., Papadopoulou, A., Karamanos, N. K., and Kletsas, D. (2019) Extracellular matrix alterations in senescent cells and their significance in tissue homeostasis, *Matrix Biol.*, **75-76**, 27-42, doi: 10.1016/j.matbio.2017.10.004.
123. Choi, H. R., Cho, K. A., Kang, H. T., Lee, J. B., Kaerberlein, M., Suh, Y., Chung, I. K., and Park, S. C. (2011) Restoration of senescent human diploid fibroblasts by modulation of the extracellular matrix, *Aging Cell*, **10**, 148-157, doi: 10.1111/j.1474-9726.2010.00654.x.
124. Sun, Y., Li, W., Lu, Z., Chen, R., Ling, J., Ran, Q., Jilka, R. L., and Chen, X. D. (2011) Rescuing replication and osteogenesis of aged mesenchymal stem cells by exposure to a young extracellular matrix, *FASEB J.*, **25**, 1474-1485, doi: 10.1096/fj.10-161497.
125. Lynch, K., and Pei, M. (2014) Age associated communication between cells and matrix: a potential impact on stem cell-based tissue regeneration strategies, *Organogenesis*, **10**, 289-298, doi: 10.4161/15476278.2014.970089.
126. Ebnerasuly, F., Hajebrahimi, Z., Tabaie, S. M., and Darbouy, M. (2018) Simulated microgravity condition alters the gene expression of some ECM and adhesion molecules in adipose derived stem cells, *Int. J. Mol. Cell. Med.*, **7**, 146-157, doi: 10.22088/IJMCM.BUMS.7.3.146.
127. Zhivodernikov, I., Ratushnyy, A., and Buravkova, L. (2021) Simulated microgravity remodels extracellular matrix of osteocommitted mesenchymal stromal cells, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 5428, doi: 10.3390/ijms22115428.
128. Carmeliet, G., Nys, G., and Bouillon, R. (1997) Microgravity reduces the differentiation of human osteoblastic MG-63 cells, *J. Bone Min. Res.*, **12**, 786-794, doi: 10.1359/jbmr.1997.12.5.786.
129. Zhang, C., Li, L., Jiang, Y., Wang, C., Geng, B., Wang, Y., Chen, J., Liu, F., Qiu, P., Zhai, G., Chen, P., Quan, R., and Wang, J. (2018) Space microgravity drives transdifferentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells from osteogenesis to adipogenesis, *FASEB J.*, **32**, 4444-4458, doi: 10.1096/fj.201700208RR.
130. Libertini, G. (2014) The programmed aging paradigm: how we get old, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1004-1016, doi: 10.1134/S0006297914100034.

**MICROGRAVITY EFFECTS AND AGING PHYSIOLOGY:
SIMILAR CHANGES OR COMMON MECHANISMS?****Review****A. Yu. Ratushnyy and L. B. Buravkova****Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences,
123007 Moscow, Russia; e-mail: buravkova@imbp.ru*

Despite the use of preventive measures (including intense physical activity), cosmonauts and astronauts develop muscle atony and atrophy, insufficiency of the cardiovascular system, osteopenia, etc. All these changes, reminiscent of age-related physiological changes, occur in a healthy person in microgravity quite quickly – within a few months. Adaptation to the absence of gravity leads to the symptoms of aging, which are compensated after returning to Earth. The prospect of interplanetary flights raises the question of gravity thresholds, below which the main physiological systems will lose their functional potential, similar to aging, and affect life expectancy. An important role in the aging process belongs to the body's cellular reserve – progenitor cells, which are involved in physiological remodeling and regenerative/repairative processes of all physiological systems. With age, progenitor cell count and the regenerative potential decreases. Moreover, their paracrine spectrum becomes pro-inflammatory during replicative senescence, disrupting tissue homeostasis. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) are mechanosensitive, and therefore the absence of a gravitational stimulus causes serious changes in their functional status. The review compares the cellular effects of microgravity and changes developing in senescent cells, including stromal precursors.

Keywords: microgravity, aging, cell senescence, mesenchymal stromal cells (MSCs)

АКТУАРНАЯ СКОРОСТЬ СТАРЕНИЯ В КОГОРТАХ ЧЕЛОВЕКА

© 2023 Л.А. Гаврилов^{1,2*}, Н.С. Гаврилова^{1,2}

¹ NORC at the University of Chicago, 60637 Chicago, IL, USA

² Институт демографических исследований, ФНИСЦ РАН,
109028 Москва, Россия; электронная почта: lagavril@yahoo.com

Поступила в редакцию 01.08.2023

После доработки 08.10.2023

Принята к публикации 09.10.2023

Скорость старения является важной характеристикой процесса старения человека. Попытки измерить темпы старения с помощью параметра наклона в уравнении Гомперца привели к выводу, что актуарная скорость старения оставалась стабильной на протяжении большей части XX века, но в последнее время демонстрирует рост в большинстве изученных популяций. Эти результаты были получены с использованием поперечных данных о смертности, а не путём анализа смертности реальных когорт рождения. В данном исследовании мы проанализировали исторические изменения актуарной скорости старения в когортах человека. Параметры уравнения Гомперца оценивались в возрастном интервале 50–80 лет с использованием данных о повозрастных коэффициентах смертности в одногодичных когортах из Human Mortality Database (HMD). Всего были проанализированы данные по 2294 когортам мужчин и женщин для 76 популяций. Анализ исторических трендов параметра наклона уравнения Гомперца в изученных когортах выявил две различные закономерности изменения актуарной скорости старения. В странах Восточной Европы с более высокой смертностью показатели актуарной скорости старения демонстрируют постоянное снижение, начиная с когорты рождённых в 1910 по 1940 г. В странах Западной Европы с более низкой смертностью, а также в Австралии, Канаде, Японии, Новой Зеландии и США актуарная скорость старения снижалась, начиная с когорты, рождённой в 1910 г., до когорты, рождённой приблизительно в 1930 г., а затем росла. В целом, в 50 из 76 исследованных популяций (68%) актуарная скорость старения демонстрирует тенденцию к снижению с течением времени. Впервые было проверено и подтверждено существование компенсационного эффекта смертности (КЭС) и оценена видовая продолжительность жизни в когортах человека. При этом оценки видовой продолжительности жизни человека для когорты были близки к оценкам, полученным для поперечных данных, опубликованных ранее.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: старение, смертность, компенсационный эффект смертности, видовая продолжительность жизни, скорость старения.

DOI: 10.31857/S0320972523110106, **EDN:** MLPLLP

ВВЕДЕНИЕ

Исследования повозрастных траекторий смертности и, в частности, актуарной скорости старения важны для понимания фундаментальной биологии старения и разработки реальных мер замедления старения [1]. Скорость старения часто оценивают как коэффициент наклона в уравнении Гомперца, описывающем экспоненциальный рост смертности с возрастом [2, 3]. Полученную таким образом скорость старения называют актуарной скоростью старения. Такой подход выглядит разум-

ным, поскольку гипотетические нестареющие популяции имеют коэффициент наклона, равный нулю, а также поскольку этот параметр наклона характеризует скорость увеличения смертности с возрастом.

Предыдущие исследования актуарной скорости старения человека показали тенденцию к её увеличению в течение последних 30 лет в большинстве стран [2, 3]. Эти результаты, полученные для современных популяций, выглядят неожиданными, учитывая продолжающееся снижение смертности среди взрослого населения. Надёжная теория старения указывает, что коэффициент наклона в уравнении Гомперца определяется не только скоростью потери функции с возрастом («истинная скорость старения»), но и исходными уровнями

Принятые сокращения: КЭС – компенсационный эффект смертности.

* Адресат для корреспонденции.

избыточности (начальными резервными возможностями организма) [1, 4]. Таким образом, актуарная скорость старения определяется не только внутренним ухудшением состояния органов и тканей, но и другими факторами, включая воздействие окружающей среды.

Значения актуарной скорости старения различны в разных популяциях и организованы таким образом, что более низкая исходная смертность компенсируется более быстрым её ростом с возрастом. Это означает, что высокие исходные показатели смертности в неблагополучных популяциях (внутри данного вида) компенсируются низкой величиной актуарной скорости старения (более длительным периодом удвоения смертности). В результате этой компенсации уровни смертности имеют тенденцию к сближению в старшем возрасте [1]. Это явление получило название компенсационного эффекта смертности (КЭС) [2].

Ранее мы исследовали исторические изменения актуарной скорости старения и КЭС, используя поперечные данные о смертности [2]. Однако этот подход подвергся конструктивной критике, и поступила рекомендация изучать КЭС на когортных данных [5]. В данной статье эта критика принята во внимание, и исследуются исторические изменения актуарной скорости старения и КЭС с использованием когортных данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Одной из целей данного исследования является анализ изменения актуарной скорости старения со временем и проверка существования КЭС в когортах человека. Подобный анализ когортных данных до сих пор не проводился, и все предыдущие исследования актуарной скорости старения и КЭС выполнялись с использованием поперечных данных [1–3, 6].

Методы. На первом этапе анализа были рассчитаны параметры R_0 и α уравнения Гомперца (1):

$$\mu(x) = R_0 \exp(\alpha x), \quad (1)$$

где $\mu(x)$ – повозрастная когортная смертность в возрасте x , а R_0 и α – параметры Гомперца. Для поперечных данных актуарная скорость старения обычно оценивается с использованием уравнения Гомперца–Мейкема, имеющего дополнительное независимое от возраста слагаемое (параметр Мейкема). В случае когортных данных (в отличие от поперечных) параметр Мейкема (или фоновая смертность)

не является постоянным и зависит от возраста, поскольку он меняется с течением времени. Было также показано, что в современных популяциях фоновая смертность очень низка [1, 7] и, следовательно, не оказывает заметного влияния на оценки параметров уравнения Гомперца. В данном случае мы используем тот факт, что после 60-х годов XX века фоновая смертность снизилась до очень низких уровней, близких к нулю [2, 8]. Таким образом, при оценке параметров в возрастах старше 50 лет и в когортах, рождённых в 1910 г. и позже, параметр Мейкема можно проигнорировать. Бонгаартс оценивал фоновую и возрастную (senescent) смертность, используя данные о причинах смерти, и обнаружил, что после 50–60 лет смертность почти полностью определяется возрастной смертностью [7].

Параметры модели Гомперца оценивались методом нелинейной регрессии в возрастном интервале 50–80 лет (процедура *nlin* в пакете Stata, версия 14), как это было предложено ранее для поперечных данных [6]. Возрастной интервал 50–80 лет характеризуется увеличением темпов роста смертности с возрастом (life table aging rate) у женщин, тогда как для мужских когорт эта закономерность не столь очевидна [9, 10]. Считается, что этот возрастной интервал характеризует изменения возрастной компоненты смертности [10]. Некоторые исследователи используют логистическую модель для изучения смертности в поперечных данных, чтобы отразить замедление смертности (mortality deceleration) после возраста 85 лет [6, 7]. В нашем исследовании анализируется смертность в возрасте до 85 лет, поэтому применение модели Гомперца в данном случае оправдано.

Известно о следующей проблеме: использование метода наименьших квадратов часто приводит к плохо определяемой задаче нелинейной оптимизации, которая чрезвычайно чувствительна к ошибкам выборки и малейшим систематическим демографическим изменениям [11]. Эта проблема обсуждалась в нашей предыдущей публикации [2].

Исторические тренды актуарной скорости старения для каждой популяции мужчин и женщин (с 1910 по 1940 г. рождения) оценивались с использованием модели линейной регрессии и анализа знака и статистической значимости параметра наклона регрессии.

КЭС можно определить количественно, используя обратную зависимость между параметрами Гомперца (2):

$$\ln R_0 = \ln M - B\alpha. \quad (2)$$

Видовая продолжительность жизни (параметр B в уравнении 2) была получена с помощью линейной регрессии между параметрами Гомперца ($\ln R_0$ и α) в виде, представленном в уравнении 2. Таким образом оценивались видовая продолжительность жизни (параметр наклона, B) и отсекаемый отрезок (параметр $\ln M$).

Данные. В настоящем исследовании в качестве источника данных о смертности использовалась Human Mortality Database (HMD), www.mortality.org [12]. Эта база данных содержит информацию о смертности в 42 странах с достаточно хорошим качеством демографической статистики. В общей сложности использовались повозрастные когортные коэффициенты смертности для 3304 когорт, доступных в HMD (что охватывает данные для когорт 1900–1940 гг. рождения). Исследование исторических изменений актуарной скорости старения было сосредоточено на более поздних трендах для когорт с 1910 по 1940 г. рождения и включало 2294 когорты. В базе данных доступны повозрастные когортные показатели смертности мужчин и женщин в возрасте от 0 до 110 лет и старше. Однако данные о когортной смертности часто недоступны для всего возрастного диапазона, поскольку многие когорты ещё не закончили своё дожитие. Использовались данные за каждый год возраста и за каждый календарный год рождения.

Исторические изменения актуарной скорости старения в когортах человека. Исторические изменения актуарной скорости старения в демографических когортах ранее не изучались. Данные о когортной смертности не так многочисленны и доступны, как поперечные данные, и требуют наличия длинных временных рядов смертности для реконструкции когортной смертности. Для этого исследования мы выбрали однолетние когорты людей, родившихся с 1900 по 1940 г., чтобы охватить максимальное количество стран.

Исторические тренды актуарной скорости старения для когорт анализировались за период с 1910 по 1940 г. (годы рождения соответствующих когорт). Для каждой страны/пола мы рассчитывали линейную регрессию параметра наклона Гомперца (оценки актуарной скорости старения) по году рождения для соответствующей когорты. В табл. 1 представлены параметры наклона этой линейной регрессии вместе с соответствующими значениями p . Можно заметить, что в отличие от поперечных данных, актуарная скорость старения для когортных данных имеет тенденцию к снижению с течением времени в большинстве изучен-

ных популяций. Актуарная скорость старения снизилась в 22 регионах для обоих полов, в 7 регионах – только для мужчин и в одном регионе – только для женщин. В 10 случаях для мужчин и в 15 случаях для женщин показатели актуарного старения не показали статистически значимых изменений. Таким образом, 68% изученных популяций продемонстрировали тенденцию к снижению актуарной скорости старения.

Анализируя отдельные тренды для каждой страны, мы обнаружили две различных закономерности изменения актуарной скорости старения. В странах с более низкой смертностью, к которым относятся страны Западной Европы (Австрия, Германия, Дания, Испания, Финляндия, Франция, Англия и Уэльс, Северная Ирландия, Италия, Шотландия, Великобритания, Ирландия, Нидерланды, Норвегия, Португалия, Швеция), а также Австралия, Канада, Япония, Новая Зеландия и США, актуарная скорость старения снижались примерно до когорты 1930-х гг. рождения, а затем увеличивались (рис. 1, Италия).

В странах с более высокой смертностью (Болгария, Беларусь, Чехия, Эстония, Венгрия, Литва, Латвия, Польша, Россия, Словакия, Украина) актуарная скорость старения всегда снижались (рис. 1, Литва). Рис. 1 является лишь иллюстрацией, но те же две закономерности наблюдаются и в других странах. Есть несколько исключений. В Бельгии показатели актуарного старения оставались неизменными как для мужчин, так и для женщин. В Швейцарии актуарная скорость старения увеличилась для когорт более позднего года рождения только для женщин и осталась неизменной для мужчин. На Тайване актуарная скорость старения увеличилась у мужчин и продолжала снижаться у женщин.

На рис. 2 показана повозрастная смертность в когортах 1920, 1930 и 1940 г. рождения у шведских и польских мужчин. Можно заметить, что у мужчин Польши траектории смертности расходятся для всех трёх когорт, что соответствует снижению актуарной скорости старения в более поздних когортах рождения. С другой стороны, у мужчин Швеции расхождение траекторий смертности наблюдается только в когортах 1920 и 1930 г. рождения, что соответствует графику, представленному на рис. 1 для западноевропейской страны с более низкой смертностью.

Данные о смертности в когортах человека дают возможность изучить временные тенденции актуарной скорости старения когорт в разных странах. В целом, актуарная скорость

Таблица 1. Исторические тренды актуарной скорости старения для когорт человека с 1910 по 1940 г. рождения*

Страна/регион	Мужчины		Женщины	
	Параметр наклона линейной регрессии $\times 10^3$	<i>p</i> -значение	Параметр наклона линейной регрессии $\times 10^3$	<i>p</i> -значение
Австралия	0,2194	0,001	0,1387	0,019
Австрия	-0,3734	<0,001	-0,1755	0,004
Бельгия	-0,0585	0,031	-0,0137	0,721
Болгария	-1,1383	<0,001	-0,7642	<0,001
Беларусь	-1,3228	<0,001	-1,3422	<0,001
Канада	-0,0321	0,415	-0,0740	0,076
Швейцария	-0,1837	0,001	-0,0882	0,033
Чехия	-0,0871	<0,001	-0,6300	<0,001
Германия	-0,2687	<0,001	0,0352	0,347
Дания	-0,7425	<0,001	-0,8647	<0,001
Испания	-0,3475	<0,001	0,0445	0,346
Эстония	-1,4662	<0,001	-1,5405	<0,001
Финляндия	-0,0140	0,750	-0,2237	0,008
Франция	-0,3126	<0,001	-0,1574	<0,001
Англия и Уэльс	-0,1505	0,032	-0,1443	0,030
Северная Ирландия	-0,000006	0,892	0,0960	0,283
Великобритания	-0,1622	0,020	-0,1272	0,053
Шотландия	-0,2686	<0,001	0,0398	0,541
Венгрия	-1,2918	<0,001	-0,7143	<0,001
Ирландия	-0,5714	<0,001	-0,2981	0,001
Исландия	-0,1458	0,435	0,3480	0,195
Италия	0,0291	0,614	0,0944	0,039
Япония	-0,2001	<0,001	0,0812	0,003
Литва	-1,1191	<0,001	-1,0182	<0,001
Люксембург	-0,3288	0,001	-0,0594	0,668
Латвия	-1,2239	<0,001	-1,2308	<0,001
Нидерланды	-0,4269	<0,001	-0,5814	<0,001
Норвегия	-0,4545	<0,001	-0,5405	<0,001
Новая Зеландия	0,0900	0,335	0,0643	0,401
Польша	-1,3398	<0,001	-1,1047	<0,001
Португалия	-0,5002	<0,001	-0,5316	<0,001
Россия	-1,0891	<0,001	-1,3581	<0,001
Словакия	-1,0837	<0,001	-0,6272	<0,001
Словения	2,1571	<0,001	2,9576	<0,001
Швеция	-0,2394	<0,001	-0,2537	<0,001
Тайвань	-0,1583	<0,001	-0,4012	<0,001
Украина	-1,0314	<0,001	-1,1605	<0,001
США	0,1323	0,003	0,0343	0,400

Примечание. Коэффициенты наклона линейной регрессии для зависимости актуарной скорости старения от когорты рождения.

* Параметры Гомперца оценивались в возрастном интервале 50–80 лет. Линейная регрессия коэффициента наклона уравнения Гомперца по времени (когорте) была проведена для 31 когорты для каждого региона/пола. Жирным шрифтом выделены случаи со статистически значимыми ($p < 0,05$) изменениями актуарной скорости старения.

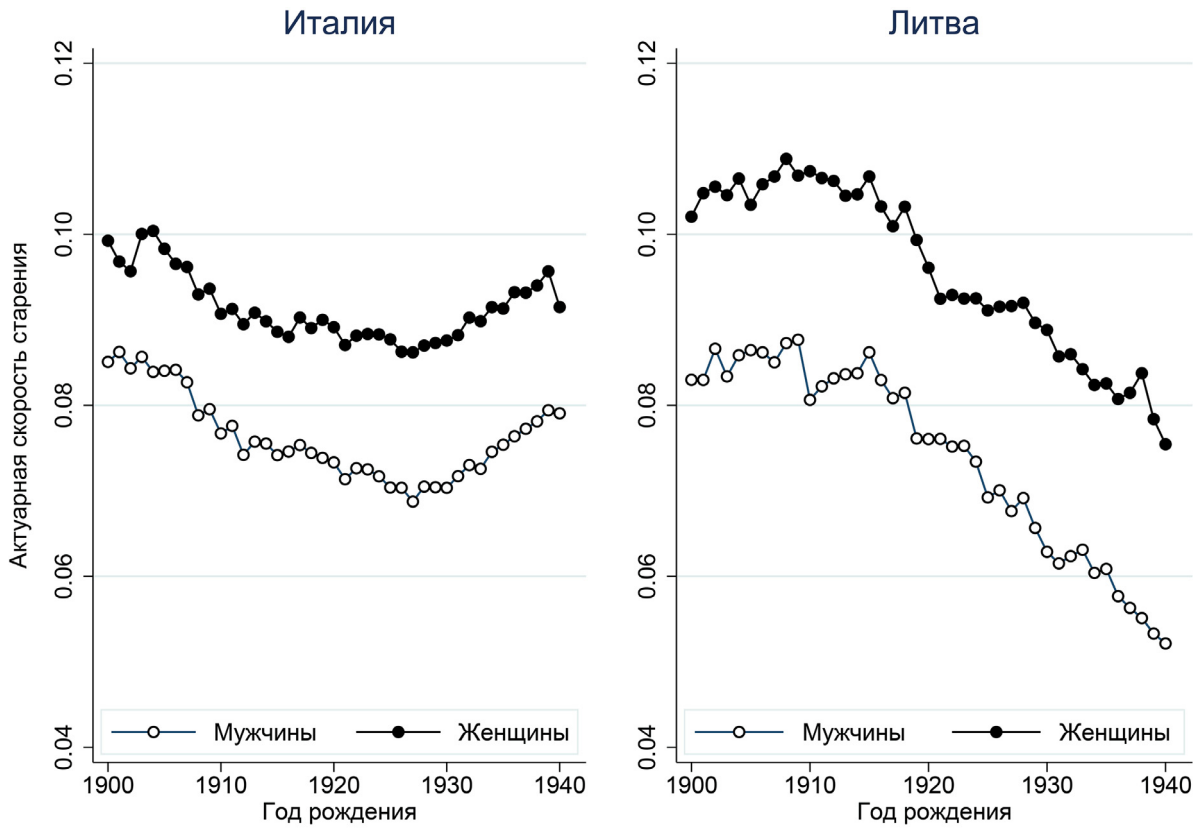


Рис. 1. Исторические изменения актуарной скорости старения в стране Западной Европы с более низкой смертностью (Италия) и в стране Балтии с более высокой смертностью (Литва)

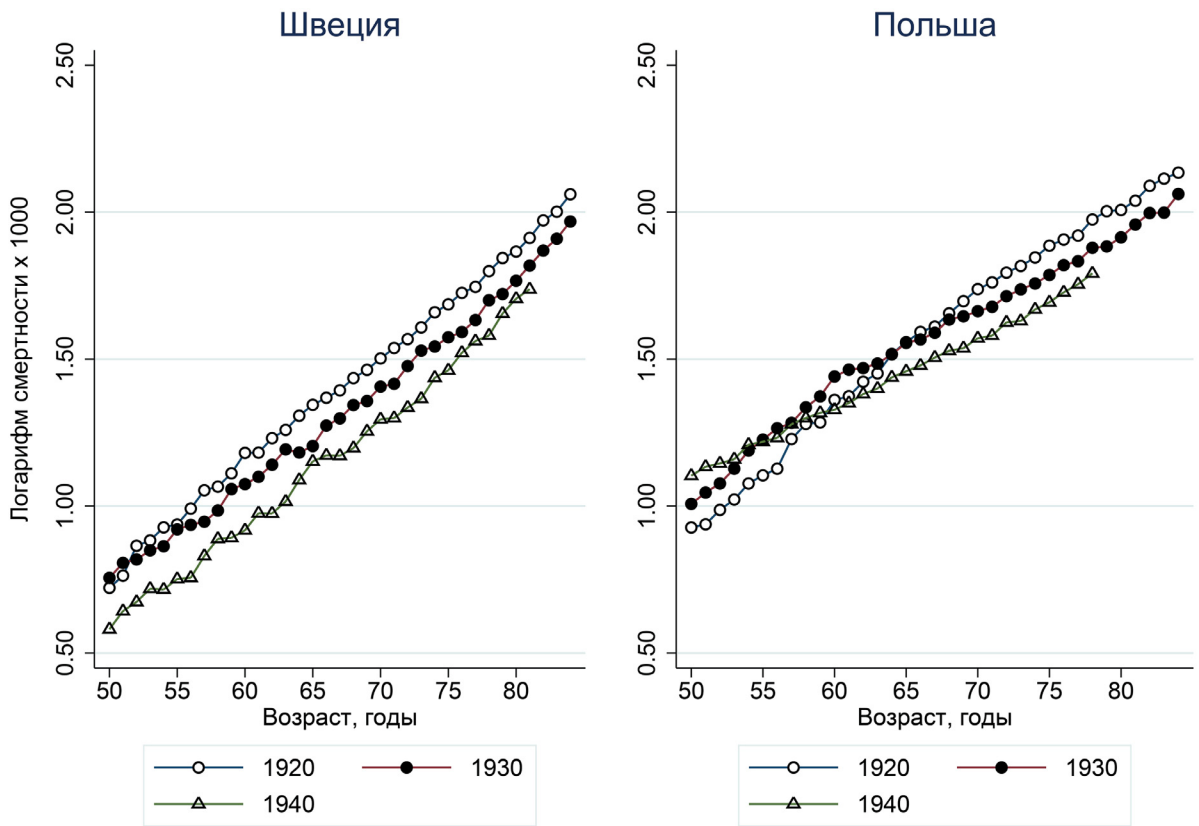


Рис. 2. Смертность (логарифмическая шкала для десятичного логарифма) в зависимости от возраста для трёх когорт шведских и польских мужчин

старения демонстрирует тенденцию к снижению. С другой стороны, в странах с более низким уровнем смертности наблюдаются V-образные изменения актуарной скорости старения.

Эти результаты отличаются от тех, которые были получены для поперечных данных о смертности. Наши более ранние исследования показали, что актуарная скорость старения относительно стабильна во времени, по крайней мере, до 60-х годов XX века [1, 8]. Исследования Бонгаартса подтвердили этот первоначальный вывод [6, 7]. Однако в дальнейшем стало ясно, что после 1960-х гг. актуарная скорость старения имеет более сложную траекторию и демонстрирует рост после 1980-х гг. [2, 3]. Эти выводы были сделаны на основании поперечных данных о смертности.

Компенсационный эффект смертности для когорт человека. КЭС определяется как схождение (конвергенция) смертности в старших возрастах, когда более высокие значения параметра наклона в функции Гомперца (темпы роста смертности) компенсируются более низкими значениями параметра отсекаемого отрезка R_0 в разных популяциях данного биологического вида [1, 13]. КЭС можно определить количественно, используя обратную зависимость параметров Гомперца в уравнении

Гомперца–Мейкема, представленную в уравнении (2). Исходно интерес к исследованию КЭС положила публикация Стрелера и Милдвана, которые обнаружили обратную корреляцию между параметрами Гомперца [14]. Однако эти авторы не учли параметр Мейкема при использовании довольно старых данных по смертности и, как результат, получили ложную корреляцию. Термин «компенсационный эффект смертности» был введён в 1978 г., когда учёт параметра Мейкема привёл к совершенно иным оценкам параметров корреляции Стрелера–Милдвана по сравнению с первоначальной публикацией [15]. КЭС определяется как конвергенция траекторий возрастной компоненты смертности (senescent mortality) в старших возрастах [1, 15].

Координата, соответствующая возрасту пересечения всех траекторий возрастной смертности (В), получила название видовой продолжительности жизни [1]. При использовании поперечных данных установлено, что для человека значение видовой продолжительности жизни равно 95 ± 2 годам [1, 2]. Следует отметить, что КЭС можно наблюдать даже при простом визуальном осмотре траекторий смертности в полулогарифмических координатах, не прибегая к расчёту параметров Гомперца [2].

Таблица 2. Характеристики компенсационного эффекта смертности для трёх когорт рождения, полученные на основании параметров уравнения Гомперца*

Популяция	Коэффициенты регрессии		Коэффициент корреляции между $\ln R_0$ и α	Число наблюдений
	$\ln M \pm \sigma$	$B \pm \sigma$, годы		
Все одногодичные когорты рождения с 1920 по 1940 г.				
Мужчины	$-2,39 \pm 0,10$	$84,02 \pm 1,33$	$-0,9085$	850
Женщины	$-4,36 \pm 0,11$	$66,13 \pm 1,28$	$-0,8716$	850
Оба пола	$-3,29 \pm 0,09$	$75,35 \pm 1,23$	$-0,9029$	850
Все одногодичные когорты рождения с 1930 по 1940 г.				
Мужчины	$-1,57 \pm 0,09$	$97,81 \pm 1,29$	$-0,9624$	460
Женщины	$-3,36 \pm 0,15$	$79,18 \pm 1,77$	$-0,9025$	460
Оба пола	$-2,38 \pm 0,10$	$89,59 \pm 1,32$	$-0,9536$	460
Когорта 1940 г. рождения				
Мужчины	$-1,68 \pm 0,16$	$97,33 \pm 2,23$	$-0,9894$	43
Женщины	$-2,87 \pm 0,39$	$86,24 \pm 4,53$	$-0,9479$	43
Оба пола	$-2,45 \pm 0,19$	$89,89 \pm 2,53$	$-0,9842$	43

* Параметры Гомперца оценивались в интервале 50–80 лет.

Примечание. Данные Human Mortality Database.

Также КЭС можно наблюдать не только у человека, но и у некоторых других биологических видов [1, 13].

Данные о когортной смертности по разным странам позволяют проверить существование КЭС для когорт человека. Существование КЭС для когортных данных ранее не проверялось. С использованием когортных данных были получены оценки параметров линейной регрессии, представленной уравнением (2).

Анализ с использованием данной линейной регрессии был проведён для более поздних когорт 1920–1940-х гг. рождения и использовал оценки параметров Гомперца для 76 популяций мужчин и женщин, полученных в возрастном интервале 50–80 лет. В табл. 2 представлены результаты регрессионного анализа. Эти результаты подтверждают существование КЭС для когорт человека, хотя значения видовой продолжительности жизни [параметр B в линейной регрессии в уравнении (2)] оказались несколько ниже по сравнению с результатами, полученными на поперечных данных [1, 2]. Эти результаты также показывают более низкие значения видовой продолжительности жизни для исторически более ранних когорт рождения, что согласуется с результатами, полученными на поперечных данных [2].

В целом, можно заключить, что оценки видовой продолжительности жизни на основе когортных данных (для когорт более позднего рождения) демонстрируют хорошее соответствие с результатами более ранних публикаций, основанных на поперечных данных [1, 2]. Эти результаты означают, что количественные показатели КЭС для людей довольно стабильны.

Рис. 3 демонстрирует схождение траекторий смертности в старших возрастах (КЭС) для когорт 1930 г. рождения для нескольких популяций. Можно заметить, что мужчины в Польше имеют более низкие показатели актуарной скорости старения по сравнению с мужчинами Швеции, а женщины имеют более высокие показатели актуарной скорости старения по сравнению с мужчинами. Также можно заметить, что повозрастные траектории смертности женщин демонстрируют несколько ускоренную тенденцию роста смертности, что подтверждает результаты предыдущих исследований темпов скорости старения (life table aging rate) [10].

Рис. 3 является ещё одной наглядной иллюстрацией существования КЭС, не требующей статистической оценки параметров уравнения Гомперца.

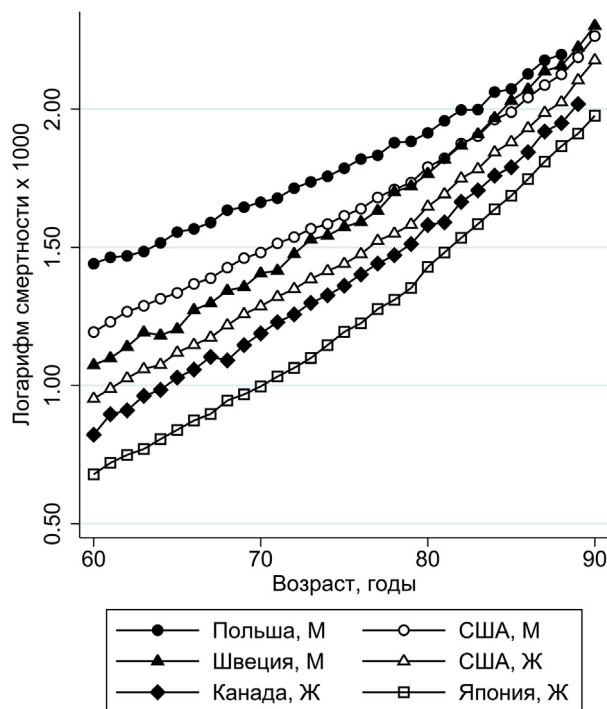


Рис. 3. Компенсационный эффект смертности для когорт человека. Логарифм смертности (логарифмическая шкала для десятичного логарифма) когорт 1930 г. рождения в шести популяциях. Обозначения: М — мужчины; Ж — женщины

ДИСКУССИЯ И ВЫВОДЫ

Было обнаружено, что КЭС для когортных данных действительно существует. Исследование количественных показателей КЭС с использованием когортных данных подтвердило, что обратная корреляция между параметром отсекаемого отрезка уравнения Гомперца, $\ln(R_0)$, и параметром наклона уравнения Гомперца (α) действительно существует и является статистически значимой, когда мы сравниваем разные популяции человека. Оценки видовой продолжительности жизни (параметр B) для когорт более позднего года рождения близки к оценкам, полученным на поперечных данных [1, 2], хотя и оказались несколько ниже. Было также обнаружено, что оценки видовой продолжительности жизни ниже для когорт исторически более ранних годов рождения. Таким образом, существование КЭС подтвердилось для когорт человека.

В этом исследовании мы также проанализировали исторические изменения актуарной скорости старения (параметр наклона уравнения Гомперца) для когорт человека. Были проанализированы временные тренды актуарной скорости старения когорт для каждой популяции отдельно, начиная с 1910 и до 1940 г. рождения. Оказалось, что большинство

популяций (52 из 76, или 68%) демонстрирует тенденцию к снижению актуарной скорости старения. Актуарная скорость старения остаётся стабильной для 23% исследованных когорт человека. Этот результат, полученный для актуарной скорости старения когорт, отличается от результата, полученного для поперечных данных. Ранее было обнаружено, что актуарная скорость старения для поперечных данных демонстрирует тенденцию к увеличению после 1980-х гг. для большинства изученных популяций [2, 3]. До периода 1980-х гг. актуарная скорость старения демонстрировала стабильность с течением времени [1, 2, 8]. С другой стороны, актуарная скорость старения, измеренная для когорт одной и той же страны и пола, имеет тенденцию к снижению с течением времени.

Изучая когортную смертность, важно осознавать, что на протяжении жизни на когорту влияет как старение, способствующее увеличению смертности, так и улучшение условий жизни, снижающее смертность. Теоретически можно допустить, что актуарная скорость старения может в конечном итоге снизиться до очень низкого уровня, близкого к нулю, что можно рассматривать как кажущуюся остановку старения. Например, если рост смертности с возрастом составляет 8% в год, но смертность снижается со временем со скоростью 2% в год, то наблюдаемый рост смертности в когорте в конечном итоге составит всего 6% в год ($8 - 2 = 6$) [16]. Если темпы исторического снижения смертности зависят от возраста, на когортных данных это может выглядеть как снижение актуарной скорости старения в более поздних когортах людей. В любом случае, снижение актуарной скорости старения выглядит как замедление старения. До сих пор неясно, чем можно объяснить увеличение актуарной скорости старения в странах с более низкой смертностью среди когорт людей, родившихся недавно. Одним из возможных объяснений является то, что эти страны уже исчерпали большую часть ресурсов для снижения смертности, таких как снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и уменьшение числа курящих. Действительно, смертность во многих из этих стран стабилизировалась в течение последних 10–15 лет, что позволяет предположить, что основной фактор снижения актуарной скорости старения почти исчез [17]. Таким образом, в настоящее время актуарная скорость старения в странах с более низкой смертностью определяется главным образом процессом старения и зависит от возрастной компоненты смертности. В странах с более высокой смертностью, таких как страны Восточной Европы,

всё ещё остаётся некоторый потенциал для снижения смертности, и, следовательно, их актуарная скорость старения продолжает снижаться.

Нам представляется, что старение следует измерять не скоростью увеличения смертности с возрастом, а скоростью потери функциональных элементов (в основном специализированных клеток) в организме. Такой подход к измерению истинной скорости старения был предложен надёжностной теорией старения [1, 4, 18]. Согласно этой теории, приблизительную оценку истинной скорости старения можно получить путём измерения одного из параметров КЭС (обратной величины видовой продолжительности жизни в уравнении (2)). Другая теория старения (метрономическая) была предложена Алексеем Оловниковым [19]. Хотя он и рассматривал процесс старения как программу, но подчёркивал, что эта программа относится главным образом к репродуктивным аспектам этого процесса. Действительно, время начала и окончания репродукции у женщин имеет определённые признаки программы [20]. Однако общий процесс старения лучше описывать моделями теории надёжности, которые предполагают постепенное разрушение организма и утрату функциональных элементов, включая теломеры и специализированные клетки.

Благодарности. Мы очень признательны российскому теоретику Алексею Матвеевичу Оловникову (1936–2022) за многочасовые дружеские научные дискуссии на многие темы биологии старения. Данная статья является частью специального выпуска журнала, посвящённого его памяти. Мы знали Алексея Матвеевича Оловникова лично с 1978 года и многому научились в результате научных бесед с ним. Один из примеров его активного участия в обсуждении наших научных исследований и презентаций приведён здесь: <https://www.youtube.com/watch?v=3cI5M88I-NU>.

Вклад авторов. Л.Г. разрабатывал план исследований, анализировал полученные результаты, редактировал рукопись. Н.Г. проводила статистический анализ данных и подготавливала рукопись.

Финансирование. Работа частично поддержана грантом Национального института здоровья (NIH R21AG054849).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или иной сфере.

Соблюдение этических норм. Данная статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gavrilov, L. A., and Gavrilova, N. S. (1991) *The Biology of Life Span: A Quantitative Approach*, Harwood Academic Publisher, New York.
2. Gavrilov, L. A., and Gavrilova, N. S. (2022) Trends in human species-specific lifespan and actuarial aging rate, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1998-2011, doi: 10.1134/S0006297922120173.
3. Tai, T. H., and Noymer, A. (2018) Models for estimating empirical Gompertz mortality: with an application to evolution of the Gompertzian slope, *Popul. Ecol.*, **60**, 171-184, doi: 10.1007/s10144-018-0609-6.
4. Gavrilov, L. A., and Gavrilova, N. S. (2006) *Reliability Theory of Aging and Longevity* in *Handbook of the Biology of Aging* (Masoro, E. J., and Austad, S. N., eds) 6 Edn., Academic Press, San Diego, pp. 3-42, doi: 10.1016/B978-012088387-5/50004-2.
5. Mikhalsky, A. I. (2023) On the Paper by Leonid A. Gavrilov and Natalia S. Gavrilova entitled "Trends in Human Species-Specific Lifespan and Actuarial Aging Rate" Published in *Biochemistry (Moscow)*, Vol. 87, Nos. 12-13, pp. 1622-1633 (2022), *Biochemistry (Moscow)*, **88**, 162-163, doi: 10.1134/S0006297923010145.
6. Bongaarts, J. (2005) Long-range trends in adult mortality: Models and projection methods, *Demography*, **42**, 23-49, doi: 10.1353/dem.2005.0003.
7. Bongaarts, J. (2009) Trends in senescent life expectancy, *Popul. Stud. (Camb)*, **63**, 203-213, doi: 10.1080/00324720903165456.
8. Gavrilov, L. A., Gavrilova, N. S., and Nosov, V. N. (1983) Human life span stopped increasing: why? *Gerontology*, **29**, 176-180, doi: 10.1159/000213111.
9. Horiuchi, S. (1997) Postmenopausal acceleration of age-related mortality increase, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **52**, B78-B92, doi: 10.1093/gerona/52A.1.B78.
10. Li, T., Yang, Y. C., and Anderson, J. J. (2013) Mortality increase in late-middle and early-old age: heterogeneity in death processes as a new explanation, *Demography*, **50**, 1563-1591, doi: 10.1007/s13524-013-0222-4.
11. Tarkhov, A. E., Menshikov, L. I., and Fedichev, P. O. (2017) Strehler-Mildvan correlation is a degenerate manifold of Gompertz fit, *J. Theor. Biol.*, **416**, 180-189, doi: 10.1016/j.jtbi.2017.01.017.
12. Human Mortality Database. University of California, Berkeley (USA), and Max Planck Institute for Demographic Research (Germany), URL: <https://www.mortality.org> (accessed on 6.5.2022).
13. Golubev, A. (2019) A 2D analysis of correlations between the parameters of the Gompertz-Makeham model (or law?) of relationships between aging, mortality, and longevity, *Biogerontology*, **20**, 799-821, doi: 10.1007/s10522-019-09828-z.
14. Strehler, B. L., and Mildvan, A. S. (1960) General theory of mortality and aging, *Science*, **132**, 14-21, doi: 10.1126/science.132.3418.14.
15. Gavrilov, L. A., Gavrilova, N. S., and Yaguzhinsky, L. S. (1978) The main patterns of aging and death of animals from the point of view of the theory of reliability [in Russian], *J. Gen. Biol.*, **39**, 734-742.
16. Gavrilov, L. A., and Gavrilova, N. S. (2023) On the Commentary by Anatoly I. Mikhalsky Published in *Biochemistry (Moscow)*, Vol. 88, No. 1, pp. 162-163 (2023), *Biochemistry (Moscow)*, **88**, 289, doi: 10.1134/S0006297923020116.
17. Ho, J. Y., and Hendi, A. S. (2018) Recent trends in life expectancy across high income countries: retrospective observational study, *Br. Med. J.*, **362**, k2562, doi: 10.1136/bmj.k2562.
18. Gavrilov, L. A., and Gavrilova, N. S. (2001) The reliability theory of aging and longevity, *J. Theor. Biol.*, **213**, 527-545, doi: 10.1006/jtbi.2001.2430.
19. Olovnikov, A. M. (2022) Planetary metronome as a regulator of lifespan and aging rate: the metronomic hypothesis, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1640-1650, doi: 10.1134/S0006297922120197.
20. Gavrilova, N. S., Gavrilov, L. A., Severin, F. F., and Skulachev, V. P. (2012) Testing predictions of the programmed and stochastic theories of aging: comparison of variation in age at death, menopause, and sexual maturation, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 754-760, doi: 10.1134/S0006297912070085.

ACTUARIAL AGING RATES IN HUMAN COHORTS

L. A. Gavrilov^{1,2*} and N. S. Gavrilova^{1,2}¹ NORC at the University of Chicago, 60637 Chicago, IL, USA² Institute for Demographic Research, Federal Center of Theoretical and Applied Sociology, Russian Academy of Sciences, 109028 Moscow, Russia; e-mail: lagavril@yahoo.com

Aging rate is an important characteristic of human aging. Attempts to measure aging rates through the Gompertz slope parameter lead to a conclusion that actuarial aging rates were stable during the most of the 20th century, but recently demonstrate an increase over time in the majority of studied populations. These findings were made using cross-sectional mortality data rather than by the analysis of mortality of real birth cohorts. In this study we analyzed historical changes of actuarial aging rates in human cohorts. The Gompertz parameters were estimated in the age interval 50-80 years using data on one-year cohort age-specific death rates from the Human Mortality Database (HMD). Totally, data for 2,294 cohorts of men and women from 76 populations were analyzed. Changes of the Gompertz slope parameter in the studied cohorts revealed two distinct patterns for actuarial aging rate. In higher mortality Eastern European countries actuarial aging rates showed continuous decline from the 1910 to 1940 birth cohort. In lower mortality Western European countries, Australia, Canada, Japan, New Zealand, and USA actuarial aging rates declined from the 1910th to approximately 1930th cohort and then increased. Overall, in 50 out of 76 populations (68%) actuarial aging rate demonstrated decreasing pattern of change over time. Compensation effect of mortality (CEM) was tested for the first time in human cohorts and the cohort species-specific lifespan was estimated. CEM was confirmed using cohort data and human cohort species-specific lifespan estimates were similar to the estimates obtained for the cross-sectional data published earlier.

Keywords: aging, mortality, compensation effect of mortality, species-specific lifespan, aging rate