

ТЕЛОМЕРАЗА-ТЕЛОМЕРЫ: БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЧАСЫ

Борис Фукс

Тема статьи несколько необычная. Работа, опубликованная в 2011 году в *Nature*, уже позволяет ставить вопрос, не наступил ли новый этап в развитии медицины, сравнимый с иммунитетом в XIX веке и с антибиотиками в XX веке. Сейчас исполняется 40 лет этому новому направлению.

Для меня лично новое направление в развитии медицины началось в 70-х годах прошлого века, когда очень молодой научный сотрудник института имени Гамалеи, ныне здравствующий Алексей Оловников, рассказал, что при каждом делении клетки в культуре ткани укорачиваются концевые отделы хромосом – теломеры*.

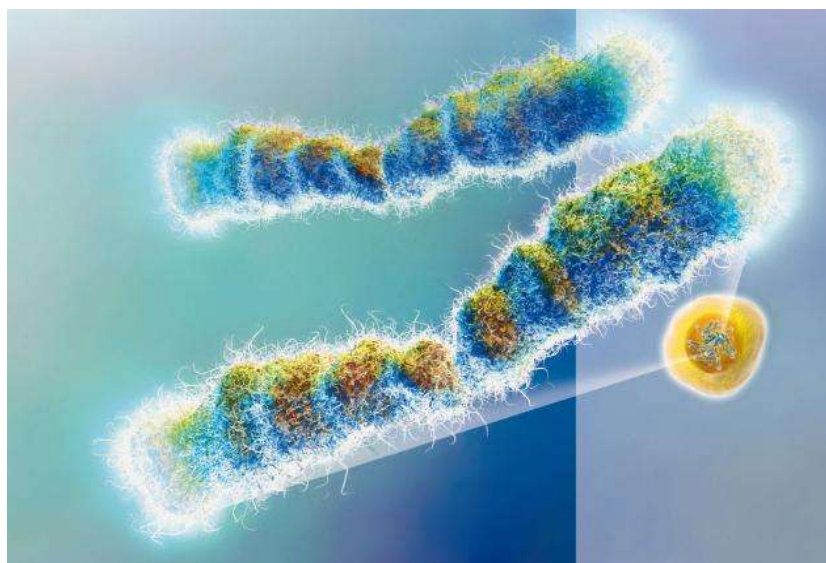


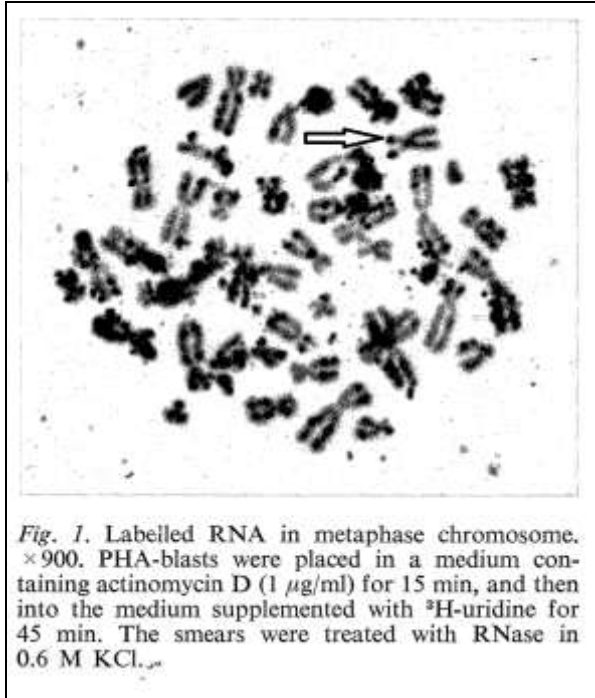
Рис. 1. На фотографии хромосом человека видны теломеры.

К этому времени мы уже знали правило Хайфлика, согласно которому клетка может делиться примерно только 50 раз и затем погибает [1]. Оловников опубликовал экспериментальные работы в России и обобщающую теорию – в США [2]. В это время я с моими сотрудниками изучали хромосомную РНК. Мы обнаружили и изучили в теломерах метафазных хромосом человека РНК, по ряду признаков гибридно-

связанную с *DNA* теломер [3]. Мы тогда не знали, что речь идёт об одном из трёх основных компонентов биочасов – о матричной РНК, по которой теломераза строит теломерную ДНК.

* Прим. Ред. – * по тексту - см. Краткий словарь терминов

На Рис. 2 (фотография метафазных хромосом) стрелка показывает меченую РНК в теломере хромосомы.



Меченая РНК в метафазных хромосомах*. $\times 900$. РНА – *blasts* (ФГА-бласты) были помещены в среду, содержащую актиномицин Д (1 мкг/мл) на 15 минут. После этого их перенесли в среду, содержащую ^3H -уридин на 45 минут. Мазки были обработаны рибонуклеазой в 0.6 М КСL.

Молодая постдок *E. Blackburn* начала исследовать проблему в 1975 году. Затем к ней присоединилась аспирантка *Carol W. Greider* и *Jack W. Szostak* в Гарварде (рис. 3). Они проделали большую работу, исследуя, как функционируют биологические часы. В 2009 году всем троим была присвоена Нобелевская премия “*for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase*”.



Elizabeth H. Blackburn

Carol W. Greider

Jack W. Szostak

Естественно, за прошедшие годы многие исследователи присоединились к этому направлению. Так, в конце столетия опубликована работа большой группы авторов,

включая А. Оловникова [4]. Что сегодня точно известно? При каждом делении клетки фермент теломераза* – функционально обратная транскриптаза* – строит по матрице РНК довольно однообразные молекулы ДНК, образующие теломеры. При каждом делении молекулы теломерной ДНК становятся на 200-300 букв (нуклеотидов) короче. Длина теломерной *DNA* составляет около 10-15 тысяч букв. Если разделить 15 тысяч на 300, получим 50, т.е. 50 делений клетки. На самом деле такой точности нет. Существует определённый разброс. Система теломераза-теломеры – действительно биочасы нашей жизни, но идут они с разной скоростью у каждого из нас. Теломеразу можно сравнить с двигателем, а теломеры – со стрелками часов. Только эти стрелки не движутся по циферблату, а постепенно укорачиваются. Опубликованы многочисленные работы о корреляции между активностью теломеразы и длиной теломер, с одной стороны, и образом жизни и болезнями – с другой.

Рассмотрим некоторые из них, но сначала отметим, что в работе «механизма часов» есть важные неизвестные параметры. Теломераза синтезируется в цитоплазме. Её *messenger RNA* подвергается синтезу на гене в хромосоме 3d26. Далее её четыре домена (части) объединяются и транспортируются к концам хромосом, где один из них соединяется с теломерной РНК. Последняя, в свою очередь, синтезируется на другой хромосоме и тоже доставляется к теломерам. Как эти точные и сложные действия осуществляются, неизвестно. Только в самое последнее время появились сообщения об открытии принципиально новой области молекулярной биологии и генетики – комплекса т. н. *linkRNA*. РНК-овый мир (*RNA-world*), эволюционный предшественник ДНК-мира, по-видимому, не исчез. После возникновения в эволюции генов белков он сохранил своё представительство на 98.5% ДНК генома и, по-видимому, сейчас исполняет роль организатора внутриклеточных процессов (*see T.H. Saey, Missing links, Sci News, December 17, 2011*)[17]. Неизвестно, как работает этот механизм.

Итак, о корреляциях. Итальянские учёные исследовали более 250 добровольцев, часть из которых выпивала ежедневно более четырёх порций спиртного. Результаты исследования показали, что алкоголь ускоряет укорочение теломер. Самым заметным образом теломеры уменьшались у тех испытуемых, которые пили больше всего. У некоторых из них длина теломер была в половину короче, чем у тех, кто вовсе избегал спиртного. Регулярные физические упражнения повышают эндогенную антиоксидантную защиту теломер [5,6]. Умеренный, но не низкий или слишком высокий расход энергии при упражнениях обеспечивает защитный эффект в отношении длины теломер лимфоцитов. Окислительный стресс* и воспаление – общие ключевые факторы сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения, резистентности к инсулину и диабета 2-го типа. Все они связаны с более короткими теломерами. Длительное воздействие связанных со стрессом гормонов (катехоламинов и кортизола) повышает окислительные повреждения клеток и наносит ущерб системе обслуживания теломер. Длина теломер является прогностическим показателем риска заболеваний, их прогрессии и преждевременной смертности, а также характеристикой снижения выживаемости у пациентов с ишемической болезнью сердца и инфекционными заболеваниями. Оксидативный стресс* и увеличение продукции

определённых воспалительных цитокинов отрицательно влияют на активность теломеразы [7,8,9].

Воспаление и связанное с этим увеличение оксидативного стресса не только ускоряют укорочение теломер, но, как было показано, подавляют активность теломеразы в пробирке (в гладкомышечных клетках сосудов эндотелиальных клеток) и в естественных условиях (у больных сахарным диабетом 2-го типа) [10,11,12]. Снижение активности теломеразы было связано с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний, независимо от хронологического возраста.

В исследовании с участием здоровых женщин активность теломеразы, но не длина теломер, в клетках иммунной системы была обратно пропорциональна шести основным факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний [13]. Активность теломеразы снижалась при ожирении и резистентности к инсулину. Это приводит и к уменьшению длины теломер [14]. Измерение активности теломеразы может обеспечить более ранний прогноз геномной стабильности и долгосрочной жизнеспособности, чем длина теломер.

Экспериментальные исследования влияния диеты и изменения образа жизни проведены у 30 мужчин. Активность теломеразы у этих мужчин увеличилась на 29,84% в течение всего лишь трёх месяцев [15]. Использовали диету с низким содержанием жира (10% калорий за счёт жира), диета была ориентирована на овощи, фрукты, неочищенные злаки и бобовые. Потребление рафинированных углеводов было сведено к минимуму. Диета была дополнена: соя (одна ежедневная порция тофу плюс 58 граммов соевого белка), рыбий жир (3 г в день), витамин Е (100 МЕ в день), селен (200 мкг в день) и витамин С (2 г в день). Кроме того, испытуемые приняли участие в умеренных аэробных упражнениях (ходьба 30 мин / день, 6 дней / неделю). В стрессовых ситуациях – нежная йога, дыхание, медитация и прогрессивные методы релаксации 60 мин / день, 6 дней / неделю. Все лекарства оставались неизменными, за исключением статинов и наркотиков, дозировка которых была снижена. Увеличение активности теломеразы в этом исследовании сопровождалось уменьшением восприятия психологического стресса и снижением *LDL* холестерина. Точный (-ые) механизм (-ы) этих положительных результатов неизвестен (неизвестны).

Из приведённых примеров следует, что болезни, интоксикации, неоптимальный образ жизни подавляют активность теломеразы, которая при каждом делении клетки должна восстанавливать теломеры. В результате укорачиваются теломеры – укорачивается жизнь клетки. Значит ли это, что роль теломеразы-теломеров пассивная, что биочасы только регистрируют факт укорочения жизни клетки (и организма), но сами не влияют на жизненные процессы?

Ronald A. DePinho (2011) с большой группой соавторов из Гарварда поставили вопрос, как **избирательное подавление теломеразы** влияет на старение и болезни и, главное, **можно ли, активируя теломеразу**, обратить вспять старение и болезни [*Mariela Jaskelioff, Florian L. Muller, Ji-Hye Paik, Emily Thomas, Shan Jiang, Andrew Adams, Ergun*

Sahin, Maria Kost-Alimova, Alexei Protopopov, Juan Cadiñanos, James W. Horner, Eleftheria Maratos-Flier, and Ronald A. DePinho] [16]. Опыты поставлены на гомозиготных мышах - самцах *TERT-ER*, выведенных из гетерозиготных *TERT-ER* мышей с использованием известных генетических методов. Подопытные мыши имели минимальную активность фермента теломеразы и выраженные дегенеративные нарушения в органах.

У автора настоящей статьи в этом пункте возникают многочисленные вопросы, которые невозможно поднять и обсудить в пределах небольшой статьи.

Авторы выдающегося исследования, которое мы цитируем, представили некоторый конечный результат резкого снижения активности теломеразы в делящихся клетках. У этих мышей в клетках были короткие теломеры. Наблюдались повреждения ДНК в хромосомах. У мышей без теломеразы сильно пострадал мозг. Эти мыши не имели потомства. Они быстро старели и жили в среднем 43 недели, тогда как мыши исходной линии жили 86 недель.

Подопытным мышам в возрасте 30-35 недель, т.е. старым мышам, вводили подкожно ежедневно в течение месяца активатор теломеразы 4-ОНТ (2.5мг). В крови мышей поддерживалась концентрация активатора 1 нг/мл. Длительность жизни мышей увеличивалась до 80 недель. У них удлинялись теломеры, восстанавливалась активность теломеразы, уменьшались повреждения ДНК в хромосомах и резко уменьшались дегенеративные изменения в органах: в яичках, селезенке, кишечнике и мозге. Это касалось нейронов и глиии-олигодендроглиоцитов*. Восстанавливалась способность давать потомство. Таким образом, наблюдалось очевидное и выраженное омоложение животных.

Что об этих результатах думает руководитель работы *Ronald A. DePinho*? "Представьте, что человека в возрасте 75 - 80 лет вернули к состоянию 40 - 50-летнего. Примерно это мы успешно проделали на мышах". Кроме того, как утверждает учёный, речь может идти об избавлении человечества от болезни Альцгеймера и некоторых сердечных заболеваний.

Если исходить из того, что старение связано только с потерей теломер, в результате чего происходит слияние и другие нарушения строения и функций хромосом, то круг болезней человека, связанных с этим, должен быть весьма значительным. Это предстоит выяснить. Сейчас неизвестно, какие болезни связаны не с тотальными старческими, а с локальными нарушениями теломер-теломеразы. Очевидно, что поражение органа иммунитета у подопытных мышей без теломеразы приводило к частой гибели этих мышей от пневмонии.

Возрастное падение иммунитета у людей нередко сопровождается тяжёлым течением инфекций, например пневмоний. Сердечно-сосудистые заболевания часто имеют иммунологическую составляющую.

Аналогичные изменения у человека присущи болезни Альцгеймера. Биологические часы, о которых идёт речь, могут оказаться своего рода узким горлышком - *bottle-neck* - для многих процессов жизнедеятельности организма в любом возрасте, если обратиться к примерам, приведённым выше. Очевидно, открылась большая область исследований, имеющая серьёзное значение для практической медицины.

Краткий словарь терминов (обозначены в тексте *)

- **Теломеры** – концевые отделы хромосом со специальным монотонным строением ДНК.
- **Теломераза** – фермент, который синтезирует ДНК на матрице теломерной РНК.
- **Обратная транскриптаза** – фермент, который синтезирует ДНК на матрице РНК.
- **Олигодендроглиоциты** – клетки соединительной ткани мозга – глии.
- **Окислительный, оксидативный стресс** – процесс повреждения клетки в результате окисления.
- **Метафазная хромосома** представляет собой двойную палочковидную структуру. Обе её части — хроматиды — скреплены в одной точке, называемой центромерой. В результате митотического деления каждая дочерняя клетка получает по одной хроматиде от каждой хромосомы. Центромера делит каждую хроматиду в хромосоме на две части - два плеча. Участок хромосомы, прилежащий к центромере, называется окологентромерным, наиболее дистальный от центромеры — теломера.

[Google]

Источники

1. *Hayflick L.* (1965). The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. – *Exp. Cell Res.* **37** (3): 614–636.
2. *Olovnikov A.M. (Stember, 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** (1): 181–90.
3. *Fucks B. and Martinez M.* Cytochemistry of RNA in metaphase chromosomes of human PHA-blasts. – *Exp. Cell Res.* **79** (1973) 338-342.
4. *Kipling D, Wynford-Thomas D, Jones CJ, Akbar A, Aspinall R, Bacchetti S, Blasco MA, Broccoli D, DePinho RA, Edwards DR, Effros RB, Harley CB, Lansdorp PM, Linskens MH, Prowse KR, Newbold RF, Olovnikov A.M., Parkinson EK, Pawelec G, Pontén J, Shall S, Zijlmans M, Faragher RG.* Telomere-dependent senescence. – *Nat Biotechnol.* 1999 Apr; 17(4): 313-4.
5. *Bloomer R.J.* Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. – *Adv Clin Chem.* 2008; 46: 1-50.
6. *Melikoglu M.A., Kaldirimci M., Katkat D., et al.* The effect of regular long term training on antioxidant enzymatic activities. – *J Sports Med Phys Fitness.* 2008 Sep; 48(3): 388-90.

7. *Tsirpanlis G., Chatzipanagiotou S., Boufi dou F., et al.* Serum oxidized low-density lipoprotein is inversely correlated to telomerase activity in peripheral blood mononuclear cells of haemodialysis patients. – *Nephrology* 2006; 11: 506–09.
8. *Pasini A.F., Anselmi M., Garbin U., et al.* Enhanced levels of oxidized low-density lipoprotein prime monocytes to cytokine overproduction via upregulation of CD14 and toll-like receptor 4 in unstable angina. – *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 1991–97.
9. *Matthews C, Gorenne I, Scott S, et al.* Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress. – *Circ Res* 2006; 99: 156–64.
10. *Haendeler J, Hoffmann J, Diehl JF, et al.* Antioxidants inhibits nuclear export of telomerase reverse transcriptase and delay replicative senescence of endothelial cells. – *Circ Res* 2004; 94: 768–75.
11. *Sampson M.J., Winterbone M.S., Hughes J.C., Dozio N., Hughes D.A.* Monocyte telomere shortening and oxidative DNA damage in type 2 diabetes. – *Diabetes Care* 2006; 29: 283–89.
12. *Adaikalakoteswari A, Balasubramanyam M, Mohan V.* Telomere shortening occurs in Asian Indian Type 2 diabetic patients. – *Diabet Med* 2005; 22: 1151–56.
13. *Epel ES, Lin J, Wilhelm FH, et al.* Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors. – *Psychoneuroendocrinology* 2006; 31: 277–87.
14. *Gardner JP, Li S, Srinivasan SR, et al.* Rise in insulin resistance is associated with escalated telomere attrition. – *Circulation* 2005; 111: 2171–77.
15. *Ornish D, Lin J, Daubenmier J, et al.* Increased telomerase activity and comprehensive lifestyle changes: a pilot study. – *Lancet Oncol.* 2008 Nov; 9(11): 1048-57.
16. *Mariela Jaskelioff, Florian L. Muller, Ji-Hye Paik, Emily Thomas, Shan Jiang, Andrew Adams, Ergun Sahin, Maria Kost-Alimova, Alexei Protopopov, Juan Cadiñanos, James W. Horner, Eleftheria Maratos-Flier, and Ronald A. DePinho.* Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase deficient mice. – *Nature.* 2011 January 6; 469(7328): 102–106.
17. *T.H. Saey.* Missing links. – *Sci News*, December 17, 2011