

БИОГЕРОНТОЛОГИЯ

РОЛЬ ПЕПТИДОВ В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

В.Х.Хавинсон^{1,2}, В.В.Малинин², Б.Ф.Ванюшин³

¹Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН; ³НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова

Авторы развивают новую концепцию, наиболее полно отражающую эволюционно-биологическую роль пептидов в организме. Широкий спектр физиологического действия пептидов, реализуемый через регуляцию экспрессии определенных генов, направлен на поддержание гомеостаза, замедление реализации генетической программы старения и увеличение продолжительности жизни.

Ключевые слова: пептиды, эпигенетика, онтогенез, старение, возрастная патология

Одним из актуальных направлений современной медицины является изучение молекулярно-генетических механизмов индивидуального развития и старения. В настоящее время установлено, что существуют гены, влияющие на продолжительность жизни и долголетие [12]. Многолетние исследования, посвященные изучению молекулярно-генетических механизмов старения, позволили установить, каким образом гены влияют на продолжительность жизни и старение определенных организмов. Существуют многочисленные примеры того, как различия в генной экспрессии или активности генов приводят к различиям в продолжительности жизни родственных организмов из-за изменений на уровне генома, связанных со старением. Однако для большинства видов генетические механизмы этих нарушений остаются неизвестными. Создается впечатление, что генетические механизмы старения гораздо сложнее и обладают большим видовым разнообразием, чем генетические механизмы развития. Однако до сих пор для объяснения старения не предполагали существования каких-то принципиально новых биологических механизмов, отличных от действующих в процессе развития организма. Существует большое число примеров, когда биохимические и клеточные функции остаются без изменений и нарушений в течение всей жизни. Исследования в области биологии развития показали, что боль-

шинство соматических клеток людей на протяжении жизни обладают определенным пролиферативным потенциалом и сохраняют способность к дифференцировке. При возрастном снижении этих функций существует возможность влиять на процессы старения путем воздействия на генную экспрессию [10]. Изучение генетических механизмов старения и развития возрастной патологии обосновывает идею регуляторной терапии — использования модуляторов транскрипции, сдерживающих и восстанавливающих наступающие с возрастом генетические изменения. Для этого необходимо знание топографии генома, возникающих сдвигов и использование веществ селективного действия на различные регуляторные механизмы генов [7, 10, 11].

Видовой предел продолжительности жизни животных и человека примерно на 30-40% превышает среднюю длительность жизни. Это связано с воздействием на организм различных неблагоприятных факторов, которые приводят к изменению экспрессии и структуры генов, что сопровождается нарушением синтеза белка и снижением функций организма (рис. 1).

В последние годы активно изучаются процессы, которые объясняют эти изменения. Больше всего внимание акцентируется на эпигенетических механизмах, которые определяют изменения экспрессии и активности генов без изменения структуры ДНК [3].

Общепринятым считается факт, что старение начинается задолго до рождения. Факторы,

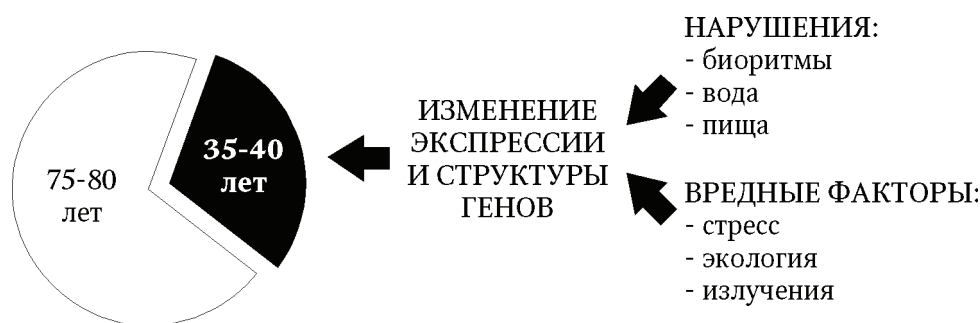


Рис. 1. Видовая продолжительность жизни человека и его биологический резерв. Светлый сектор — средняя продолжительность жизни современного человека (преждевременное старение); темный — биологический резерв жизни человека.

влияющие на организм на протяжении всех этапов пренатального онтогенеза, могут инициировать изменения, направленные на улучшение адаптации к постнатальным условиям среды или приводить к развитию различных патологических отклонений постэмбрионального развития, возрастных заболеваний и преждевременному старению [4].

Существенный вклад в развитие этих изменений вносит геномный импринтинг. В основе геномного импринтинга лежат специфические эпигенетически регулируемые структурно-молекулярные изменения отдельных участков хромосом, происходящие во время формирования мужских и женских половых клеток, которые приводят к стойким функциональным различиям экспрессии гомологичных генов у потомства. Основную роль в этом процессе отводят специфическому для особей разного пола метилированию цитозинового основания ДНК, которое выключает транскрипцию генов. Наличие такого способа регуляции работы генов свидетельствует о неэквивалентном вкладе родителей в геном потомков. Следует отметить, что импринтированные гены важны не только для контроля пре- и постнатального роста организма, но и участвуют в регуляции поведенческих реакций и развитии таких мультифакториальных заболеваний, как рак, сахарный диабет, атеросклероз, бронхиальная астма, шизофрения и т.д. [6].

Таким образом, старение является процессом генетических и эпигенетических взаимодействий на всех биологических уровнях, где эпигенетическая регуляция выполняет важную функцию в определении возникающих фенотипических различий. Механизмы эпигенетической регуляции также играют ключевую роль в развитии заболеваний, связанных со старением, и объясняют связь между генотипом человека и окружающей средой. Эпигенетические изменения обусловлены в первую очередь метилированием ДНК [2]. Б.Ф.Ванюшин и соавт. [14] обнаружили тканевую, субклеточную

и возрастную специфичность метилирования ДНК. Также было установлено, что в раковых клетках изменен паттерн метилирования ДНК [13].

Установлено, что старение сопровождается дезорганизацией пептидергической системы регуляции функций организма. Изучение процессов возрастной инволюции органов и тканей организма выявило снижение продукции в них физиологически активных веществ пептидной природы и интенсивности синтеза белка, что позволило сделать вывод о важной роли пептидов в регуляции механизмов старения. Система пептидов рассматривается в качестве универсальной при нейроиммуноэндокринных взаимодействиях [5]. Наряду с этим, пептидная регуляция физиологических функций организма осуществляется при участии тканеспецифических пептидов, поддерживающих клеточный гомеостаз. Пептидные биорегуляторы содержатся в различных клетках и тканях, образуются в ходе ограниченного протеолиза, обладают широким спектром биологического действия и координируют процессы развития и функции многоклеточных систем. Несмотря на многоуровневую иерархию, механизмы пептидной регуляции гомеостаза выполняют единую задачу — координируют процессы биосинтеза в клетках организма путем воздействия на экспрессию генов.

Пептидная регуляция гомеостаза занимает важное место в сложной цепи процессов, приводящих к старению клеток, тканей, органов и организма в целом. Морфофункциональным эквивалентом старения является инволюция органов и тканей, и прежде всего тех, которые относятся к диффузной нейроиммуноэндокринной системе. Имеются данные, свидетельствующие о возрастной гипоплазии, а в ряде случаев — и об атрофии шишковидной железы (эпифиза), тимуса, нейронов коры головного мозга и подкорковых структур, сетчатки, сосудистой стенки, половых органов [1]. Инволюционные изменения органов и тканей при

старении приводят к ослаблению их функций, что на клеточном уровне проявляется прежде всего в нарушении синтеза специфических белков. Принципиально важным является факт снижения при старении синтеза регуляторных пептидов в клетках, а также изменение чувствительности к ним клеток-мишеней. Учитывая широкий спектр биологического действия этих веществ, можно предположить, что уменьшение их продукции приводит к нарушению механизмов пептидной регуляции и постепенному угасанию функций в стареющем организме. Вместе с тем имеются данные об увеличении продукции некоторых регуляторных пептидов с возрастом. Эти изменения в стареющем организме могут быть следствием общего дисбаланса регуляторных факторов или проявлением каких-либо процессов компенсации возрастных изменений. Уникальной особенностью пептидной регуляции гомеостаза является процессинг полипептидов, который позволяет путем активизации пептидаз образовывать в нужном месте и в нужное время необходимое количество коротких пептидных фрагментов, обладающих более высокой биологической активностью, чем исходные соединения. С увеличением возраста животных выявлено снижение активности клеточных эндо- и экзопептидаз. При этом в клетках образуются и накапливаются значительные количества пептидов, которые устойчивы к имеющемуся набору пептидаз. Однако причины накопления пептидов в старых клетках окончательно не выяснены. Таким образом, при анализе спектра возрастных нарушений пептидной регуляции гомеостаза отчетливо прослеживается общая тенденция — старение сопровождается снижением синтеза и секреции регуляторных пептидов, а также ослаблением чувствительности к ним клеток-мишеней.

Развитие геронтологии на современном этапе способствует не только расширению наших представлений о механизмах старения, но и открывает новые возможности в создании физиологически адекватных для человека геропротективных средств. Всестороннее изучение механизмов действия пептидов свидетельствует о том, что именно соединения этого класса наиболее полно отвечают этим требованиям [7].

Классические данные о нормализующем влиянии пептидов на возрастные гормонально-метаболические и иммунологические изменения в настоящее время дополняются результатами изучения действия пептидов на уровне генома [10]. При изучении биологических свойств пептидов было установлено, что эти вещества принимают непосредственное участие в процессах тканеспецифической регуляции экспрессии генов и биосинтеза. В ре-

зультате пептидной регуляции в клетках снижается скорость накопления патологических изменений (повреждения ДНК, мутации, злокачественная трансформация и т.п.) и повышается активность репаративных процессов, направленных на восстановление клеточного гомеостаза.

В многочисленных исследованиях [8,10] было показано, что эндогенные пептиды участвуют в регуляции процессов дифференцировки и пролиферации клеток, изменяя функциональную активность генома и процессы синтеза белка в зависимости от состояния многоклеточной системы. Если рассматривать проявления жизни как эволюционный процесс обмена и воспроизведения генетической информации, то становится понятным значение и происхождение пептидных биорегуляторов. Как известно, на ранних этапах развития многоклеточных систем ведущая роль в процессах регуляции экспрессии генов принадлежит клеточным медиаторам. Поэтому одними из первых появляются медиаторные механизмы саморегуляции клеток, которые не имеют видовой специфичности, но обладают клеточной, что позволяет им контролировать механизмы развития многоклеточных организмов. Сформировавшиеся на ранних этапах эволюции медиаторные системы, по-видимому, не утрачивают своего значения и после специализации клеток, являясь для них важным механизмом регуляции активности генов. Нарушение пептидной регуляции снижает резистентность клеток и тканей организма к дестабилизирующим факторам как внешней, так и внутренней среды. Это может служить одной из причин инволюции органов и тканей, развития ряда заболеваний, а также ускоренного старения. Применение пептидных биорегуляторов в условиях нарушенного клеточного гомеостаза позволяет восстанавливать функциональную активность соответствующих физиологических систем и органов. В настоящее время комплексы регуляторных пептидов выделены практически из всех клеток, тканей и биологических жидкостей организма. По данным физико-химических исследований они различаются между собой по составу, молекулярной массе и электрохимическим свойствам компонентов.

Изучение влияния пептидов на возрастные изменения в эксперименте и клинике показало их высокую геропротективную активность [8]. Установлено, что при старении усиливается экспрессия генов, продукты которых участвуют в воспалительных реакциях, тогда как экспрессия генов, участвующих в энергетическом обеспечении клеток, их дифференцировке и контроле клеточной пролиферации, становится слабее. Следует отметить, что воспалительные реакции вносят существ-

венный вклад в патогенез возрастных нарушений организма человека, к числу которых в первую очередь относятся атеросклероз и болезнь Альцгеймера. Предрасположенность к воспалительным процессам является следствием иммунного дисбаланса, связанного с преимущественным ослаблением Т-зависимых иммунных реакций. Это ослабляет устойчивость организма ко многим инфекциям и раковым заболеваниям, частота которых при старении увеличивается. Другим фактором увеличения частоты опухолевых заболеваний является ослабление контроля за клеточной пролиферацией и дифференцировкой, что не только способствует опухолевому росту, но и нарушает гомеостаз тканей, а также регенерацию и нормальные функции органов и тканей. Ослабление последних происходит также из-за нарушений в механизмах выработки энергии митохондриями. Нарушение митохондриальных функций приводит к усилению продукции активных форм кислорода, которые являются факторами повреждения тканей и развития рака, атеросклероза и возрастных неврологических расстройств. Среди возрастных изменений в дифференцированных тканях наибольшую значимость для организма имеют процессы, происходящие в нейроэндокринных органах, поскольку они влияют на функции других систем, находящихся под соответствующим гормональным контролем. Учитывая это, можно оценить результаты изучения молекулярно-генетических механизмов действия пептидов, направленных на предотвращение старения.

Как известно, при старении происходит изменение экспрессии многих генов, в том числе тех, от которых зависит продукция регуляторных пептидов. Возникающий в результате таких изменений регуляторный дисбаланс может компенсироваться или корригироваться пептидными биорегуляторами, которые вызывают нормализацию функций определенных органов и тканей и оказывают позитивные системные эффекты, в том числе улучшение энергетического обеспечения тканей, снижение образования активных форм кислорода, предотвращение или коррекцию возрастных нарушений иммунных, эндокринных и других функций.

Принципиально важным в развитии представлений о механизмах геропротективного действия пептидов является исследование структурно-функциональных особенностей этих веществ. Результаты экспериментальных исследований коротких пептидов подтвердили предположение о том, что пептидные биорегуляторы обладают свойством контролировать экспрессию генов и процессы синтеза белка в клетках. Так, при изучении действия синтетических пептидов Glu-Trp, Lys-Glu, Ala-Glu-

Asp-Gly и Ala-Glu-Asp-Pro установлено, что они меняют профиль генной экспрессии в миокарде и головном мозге при введении мышам *in vivo*. Изменения генной экспрессии являются наиболее вероятной причиной физиологических эффектов пептидов, таких как восстановление ритма секреции мелатонина при введении пептида Ala-Glu-Asp-Gly старым макакам-резусам или продление срока функциональной и морфологической сохранности сетчатки глаза при введении пептида Ala-Glu-Asp-Gly крысам с наследственной пигментной дистрофией сетчатки [7]. Влияние пептидов Lys-Glu и Ala-Glu-Asp-Gly на экспрессию генов ИЛ-2 и *c-fos*, вероятно, во многом обуславливает иммуномодулирующие, онкомодифицирующие и стресспротективные свойства этих пептидов. Данные, полученные при изучении влияния пептидов Lys-Glu и Ala-Glu-Asp-Gly на канцерогенез у трансгенных мышей, подтверждают это предположение и также свидетельствуют о воздействии исследуемых пептидов на экспрессию гена РМЖ HER-2/neu. Учитывая взаимосвязь процессов свободнорадикального окисления и старения, большое значение имеет антиоксидантное и антимутагенное действие пептидов Lys-Glu и Ala-Glu-Asp-Gly. Впервые установлены механизмы геропротективного действия коротких пептидов, связанные с активацией хроматина в лимфоцитах крови пациентов старческого возраста. Это открывает новые возможности в профилактике ускоренного старения и коррекции возрастной патологии. Эффекты пептида Ala-Glu-Asp-Gly, связанные с увеличением ферментативной активности теломеразы, удлинением теломер в различных клетках и увеличением продолжительности жизненного цикла диплоидных человеческих клеток за счет преодоления лимита Хейфлика не только являются крупнейшим достижением современной биогеронтологии, но и подтверждают перспективность дальнейших разработок пептидных геропротективных средств [10].

Обнаружено, что короткие пептиды (ди-, три- и тетрапептиды) способны комплементарно взаимодействовать на промоторном участке генов со специфическими сайтами связывания ДНК, вызывая разделение цепей двойной спирали и активацию РНК полимеразы. Выявление феномена пептидной активации транскрипции генов указывает на природный механизм поддержания физиологических функций организма, в основе которого лежит комплементарное взаимодействие ДНК и регуляторных пептидов. Этот процесс является фундаментом развития и функционирования живой материи [8] (рис. 2).

Установлено, что большинство изученных пептидов связывается с дву- и одноцепочечными дез-

оксирибоолигонуклеотидами, содержащими CG- и CNG-последовательности, которые являются мишенями для метилирования ДНК у эукариот. Выявлено, что пептиды специфически модулируют *in vitro* действие эукариотических CG- и CNG-сайт-специфических эндонуклеаз (WEN1 и WEN2) на ДНК в зависимости от статуса ДНК метилирования. В большинстве случаев пептиды значительно ингибируют гидролиз ДНК этими ферментами. Вероятно, модуляция действия эндонуклеаз на гидролиз ДНК происходит благодаря сайт-специфическому связыванию пептид—ДНК, которое защищает ДНК от ферментативного гидролиза. Предполагается, что связывание пептидов с промоторными CG- или CNG-сайтами ДНК делает эти сайты недоступными для ДНК-метилтрансфераз, в результате чего промотор остается неметилированным, что является решающим фактором активации большинства генов.

В то же время исследованные пептиды Ala-Glu-Asp-Gly, Glu-Asp-Arg, Ala-Glu-Asp-Leu, Lys-Glu-Asp-Gly, Ala-Glu-Asp-Arg и Lys-Glu-Asp-Trp-NH₂ модулируют действие эндонуклеаз на гидролиз ДНК по-разному, и их действие на этот процесс может быть в известной мере опосредовано гистонами. Это очень важное наблюдение, поскольку в клетке пептиды изначально должны найти именно в хроматине те места, которые доступны для взаимодействия с ДНК, а эта доступность во многом может определяться гистонами, в том числе и гистоном H1. Разное влияние пептидов на действие этих эндонуклеаз может быть обусловлено разной сайтовой специфичностью связывания пептидов с ДНК и разной сайтовой специфичностью действия самих ферментов.

Таким образом, короткие пептиды распознают и взаимодействуют со специфическими последовательностями ДНК, а также проявляют свою биологическую активность в зависимости от характера метилирования ДНК. Специфические (комплементарные) пептид–ДНК взаимодействия могут эпигенетически контролировать генетические функции клеток, способствуя восстановлению гомеостаза и увеличению продолжительности жизни. По-видимому, эти взаимодействия играли важную роль уже на самых ранних этапах возникновения жизни и в процессе эволюции [9].

Сведения, полученные при исследовании молекулярно-генетических механизмов действия пептидов, позволяют сформулировать новую концепцию, наиболее полно отражающую эволюционно-биологическую роль пептидов в организме. Пептиды и ДНК — два класса биополимеров, которые являются носителями информации и обмениваются ею при иницировании транскрипции генов. Взаимодействие пептидов с ДНК способствует восстановлению экспрессии и структуры генов, что обеспечивает генетическую стабильность и нормализацию возрастных нарушений метаболизма, предупреждает развитие возрастной патологии и увеличивает продолжительность жизни до видового предела [10]. Пептиды можно также рассматривать в качестве информационных регуляторов генетической стабильности. Это приводит к стабилизации основных физиологических функций и замедлению процесса старения организма. Это тем более важно, если учесть определяющую роль генетического аппарата в механизмах индивидуального развития и возникновения многих заболеваний. Важно отметить, что регуляторные пептиды являют-

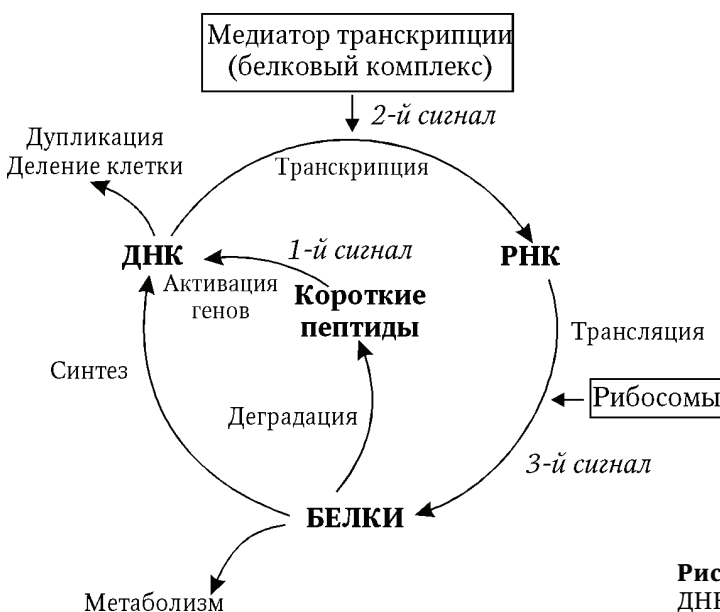


Рис. 2. Роль коротких пептидов в цикле биосинтеза ДНК, РНК, белков.

ся лекарственными препаратами нового поколения, осуществляющими физиологическое корректирующее действие без побочных эффектов.

Представленные данные о молекулярно-генетических механизмах действия коротких пептидов подтверждают современные тенденции развития протеомики и фармакогеномики и показывают новые подходы к предупреждению старения и развитию возрастной патологии [7,10,15].

Создание лекарственных средств на основе коротких пептидов позволило разработать новую технологию — генорегуляторную терапию. В ее основе лежит комплексное применение пептидных регуляторов генетической стабильности и клеточного метаболизма, что приводит к нормализации основных физиологических функций, повышению адаптационных возможностей и замедлению процесса старения организма. В частности, применение коротких пептидов у лиц с нарушениями циркадианных ритмов, занимающихся сложно-координационными видами деятельности, вызывало достоверное усиление экспрессии гена HSPA1A, кодирующего выработку белков теплового шока молекулярной массой 70 кД (HSP70), которые защищают клетки от гипоксического и стрессорного повреждения. Индивидуальный подбор пептидных препаратов с учетом генетических особенностей организма способствовал повышению физической выносливости и психической устойчивости людей.

Дальнейшее развитие этого направления позволит по-новому подойти к изучению механизмов онтогенеза. Расширение представлений о молекулярно-генетических механизмах действия пептидов

несомненно позволит создать новые геропротективные средства для профилактики ускоренного старения и возрастной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Aging of organs and systems* / Ed. R.Aspinall. Dordrecht, 2003.
2. *Calvanese V., Lara E., Kahn A., Fraga M.F.* // *Ageing Res. Rev.* 2009. Vol. 8, N 4. P. 268-276.
3. *Epigenetics* / Eds. C.D.Allis *et al.* N.Y., 2007.
4. *Gluckman P.D., Hanson M.A.* // *Science.* 2004. Vol. 305. P. 1733-1736.
5. *Handbook of biologically active peptides* / Ed. A.J.Kastin. Burlington, 2006.
6. *Hirasawa R., Feil R.* // *Essays Biochem.* 2010. Vol. 48, N 1. P. 187-200.
7. *Khavinson V.Kh.* Peptides and ageing // *Neuroendocrinol. Lett.* 2002. Vol. 23, Suppl. 3.
8. *Khavinson V.Kh.* Peptidergic regulation of ageing. SPb. 2009.
9. *Khavinson V.Kh., Fedoreeva L.I., Vanyushin B.F.* // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2011. Vol. 437. P. 64-67.
10. *Khavinson V.Kh., Malinin V.V.* Gerontological aspects of genome peptide regulation. Basel, 2005.
11. *Khavinson V.Kh., Malinin V.V.* // *Abstr. of the 19th IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics.* Paris, 2009. P. 213.
12. *Molecular Biology of Aging* / Eds. L.P.Guarente *et al.* N.Y., 2008.
13. *Romanov G.A., Vanyushin B.F.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1981. Vol. 653, N 2. P. 204-218.
14. *Vanyushin B.F., Tkacheva S.G., Belozersky A.N.* // *Nature.* 1970. Vol. 225. P. 948-949.
15. *Zdanowicz M.M.* *Concepts in Pharmacogenomics.* Bethesda, 2010.

Получено 01.07.10