

УДК 612.67, 577

## ПОДСЕМЕЙСТВО ФАКТОРОВ РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ FGF19, FGF21, FGF23 КАК ФАКТОРЫ "МОЛОДОСТИ". ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ

<sup>1,2</sup>Хавинсон В.Х., <sup>4,5</sup>Кузник Б.И., <sup>1,3</sup>Линькова Н.С., <sup>1</sup>Салль Т.С., <sup>1</sup>Орлова О.А.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

<sup>4</sup>Читинская государственная медицинская академия, Чита

<sup>5</sup>Иновационная клиника "Академия здоровья", Чита

В статье приведены сведения о роли факторов роста фибробластов FGF19, FGF21, FGF23, обладающих свойствами эндогенных гормонов, в развитии возрастной патологии человека. FGF19 играет существенную роль в развитии сахарного диабета 2 типа, ишемической болезни сердца и хронических заболеваний печени. FGF21 обладает нейропротекторным действием и регулирует метаболизм липидов и глюкозы. FGF23 является маркером клеточного старения и участвует в метаболизме кальция в клетке. Снижение экспрессии гена *FGF23* коррелирует с развитием остеопороза. Рассматривается возможность регуляции экспрессии генов *FGF19*, *FGF21*, *FGF23* с помощью пептидов KE, KED, AEDG, для которых ранее было показано стимулирующее влияние на фибробласты кожи и выявлены различные геропротекторные свойства.

Ключевые слова: факторы роста фибробластов, короткие пептиды, старение, патология.

## SUBFAMILY OF FGF19, FGF21, FGF23 FIBROBLASTS GROWTH FACTORS AS FACTORS OF "JUVENILITY". EPIGENETIC REGULATION MECHANISMS

<sup>1,2</sup>Khavinson V.Kh., <sup>4,5</sup>Kuznik B.I., <sup>1,3</sup> Linkova N.S., <sup>1</sup>Sall T.S., <sup>1</sup>Orlova O.A.

<sup>1</sup>Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg

<sup>2</sup>Pavlov Institute of Physiology of RAS, St.-Petersburg

<sup>3</sup>Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg

<sup>4</sup>Chita State Medical Academy, Chita

<sup>5</sup>Innovation Clinic "Health Academy", Chita

This article provides information about FGF19, FGF21, FGF23 fibroblasts grow factors implication in development of age-related pathologies, where these fibroblasts grow factors have the properties of endogenous hormones. FGF19 plays an important role in development of diabetes mellitus type 2, atherosclerotic cardiovascular disease, chronic liver diseases. FGF21 is a neuroprotective protein, it regulates lipid and glucose metabolism. FGF23 is a marker for cell senescence and can regulate intracellular calcium metabolism. Decreasing of *FGF23* gene expression is correlated with osteoporosis progression. The hypothesis about KE, KED, AEDG peptides regulation of *FGF19*, *FGF21*, *FGF23* genes expression is under discussion. It was shown that these peptides stimulate fibroblast division and have various geroprotective effects.

Keywords: fibroblasts grow factors, short peptides, aging, pathology.

Известно, что FGF19, FGF21 и FGF23 образуют уникальное подсемейство факторов роста фибробластов, содержащих внутримолекулярные дисульфидные связи, снижающие сродство к гепаран-сульфату, расположенному во внеклеточном пространстве. В отличие от других факторов роста фибробластов, FGF19, FGF21, FGF23 действуют как эндокринные гормоны [15]. FGF23 и его ко-рецептор  $\alpha$ -Klotho, являющийся ключевым фактором, поддерживающим гомеостаз уровня кальция и фосфата в организме [13], принимает участие в борьбе со старением [15]. Установлено, что уровень растворимого в плазме крови  $\alpha$ -Klotho с возрастом резко уменьшается, а гиперэкспрессия соответствующего гена ассоциируется с повышенным риском заболеваний, связанных с возрастом [11].

За последние годы показано, что FGF19 является фактором, препятствующим процессу старения. В частности, установлено, что FGF19 защищает печень от действия токсических веществ. При хронических заболеваниях печени содержание FGF19 в крови уменьшается. Более того, снижение уровня FGF19 способствует прогрессированию ишемической болезни сердца, а также способствует более тяжелому течению сахарного диабета 2 типа [9, 14].

Важную роль в замедлении процесса старения играет FGF21, являющийся одним из основных эндогенных регуляторов метаболизма липидов и глюкозы. Путем воздействия на FGF21 можно добиться существенных достижений в лечении таких заболеваний, как диабет и метаболический синдром. Известно, что стареющие нейроны более уязвимы к токсическому действию глутамата. При этом комбинированная терапия литием и вальпроевой кислотой вызывает синергичные протективные эффекты. Оказалось, что при такой терапии в нейронах мозга крыс значительно повышалась экспрессия мРНК FGF21. Комбинация гликоген-синтазы-киназы GSK-3 (glycogen synthase kinase-3) с вальпроевой кислотой или ингибитором деацетилазы гистонов (histone deacetylase, HDAC) с литием повышают уровень мРНК FGF21. В то же время экзогенный белок FGF21 полностью защищал стареющие нейроны от глутамата [12].

Не меньшее значение в антистарении принадлежит фактору FGF23, функция которого тесно связана с его ко-рецептором  $\alpha$ -Klotho, препятствующего развитию ассоциированных с возрастом и хронических заболеваний через регуляцию метаболизма витамина Д [10]. Так, концентрация в сыворотке крови секреторной формы Klotho (sKlotho) отрицательно коррелирует с возрастом и содержанием FGF23 и резко уменьшается у пациентов с остеопорозом [11].

В связи с этим важным представляется поиск биологически активных веществ, способных эпигенетически регулировать экспрессию геропротекторных белков FGF19, FGF21 и FGF23. К таким регуляторным молекулам можно отнести геропротекторные

пептиды – KE, KED, AEDG. Все перечисленные пептиды обладают не только выраженным геропротекторным действием, но способны воздействовать на иммунитет, сердечно-сосудистую систему и стимулировать когнитивные функции [2-7]. Ранее было высказано предположение, что пептиды KE, KED, AEDG способны взаимодействовать с сайтами связывания в промоторах белков "молодости" - мышечного гормона ирисина, являющегося регулятором длины теломер, и фактора роста GDF11, стимулирующего пролиферацию нейронов в различных образованиях центральной нервной системы у животных и людей при старении [1]. Кроме того, пептид KED в экспериментальных моделях на животных и культуре клеток стимулирует процессы пролиферации эндотелия и фибробластов [3, 6]. Пептид KE способствует заживлению ран у крыс в эксперименте [3]. Пептид AEDG, синтезированный на основе аминокислотного анализа полипептидного комплекса эпифиза, в экспериментах в культурах клеток и на животных обладает антиоксидантной активностью, регулирует синтез мелатонина, обладает иммуностимулирующими свойствами, способствует увеличению длины теломер в нормальных фибробластах и преодолению лимита Хейфлика [7]. Пептид AEDG в концентрациях 0,05- 2,00 нг/мл на 29-45% повышал пролиферацию органотипических культур ткани кожи молодых и старых крыс Wistar. Стимуляция пролиферации фибробластов кожи под действием пептидов составила в культурах клеток кожи молодых и старых животных [6].

Все эти свойства пептидов KE, KED, AEDG позволяют предположить, что они могут оказывать геропротекторный эффект в отношении фибробластов кожи, возможно, через активацию факторов роста фибробластов, в том числе FGF19, FGF21, FGF23.

Ранее методом молекулярного моделирования было показано, что для пептида KED сайтом связывания является последовательность азотистых оснований ДНК CCTGCC, а также обратная ей последовательность CCGTCC, для пептида KE – GCAG и ее обратная последовательность GACG, для пептида AEDG – ATTTTC и обратная последовательность CTTTA [4, 5]. Для изучения сайтов связывания пептидов KE, KED, AEDG были использованы данные нуклеотидной последовательности промоторной зоны генов FGF19, FGF21 и FGF23. Промоторные участки перечисленных генов человека и мыши были обнаружены с использованием поисковой системы Eukaryotic Promoter Database [8]. Полученные данные представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Возможные сайты связывания для пептидов KE, KED, AEDG в промоторных участках генов FGF19, FGF21 и FGF23 человека (*Homo sapiens*)

Ген	Регуляторный участок гена, range -499 to 100 bp (кДНК 5'→3')	GenBank №
-----	--	-----------

FGF19	TGACGTCAGATGTGCGGGGCTGCGAAAGTCGGGGGAGGGAGTGCGAGTGGGCT TTTAAGGGGAAGGGCACTAAGGCCGAGGTGAGGCTTTTCCCGACAGAGGGTGA AGGGGGCAAACCTCGGTGCCCCAACCTCTGGCCCCGGGTTCTGACCCGC CCCCGCTAGTGCCCCACGCCAGTGCATCCACTGGGAGCCTGAGGCCTGGGGGA AGGGCCCCAGTTGTGATTGCTTTAAACAAGTCAAACCTCTCCAGCCAAGAACC TCGGGGCCGCTGCGCGGTGGGGAGGAGTCCCGAAACCCGGCCGCTAAGCGA GGCCTCCTCCTCCCGCAGATCCGAACGGCCTGGGCGGGGTACCCCGGCTGGG ACAAGAAGCCGCCGCTGCTGCCCGGGCCCGGGGAGGGGGCTGGGGCTGGG GCCGGAGGCGGGGTGTGAGTGGGTGTGTGCGGGGGCGGAGGCTTGATGCAAT CCCGATAAGAAATGCTCGGGTGTCTTGGGCACCTACCCGTGGGGCCGTAAGGC GCTACTATATAAGGCTGCCGGCCGGAGCCGCCGCGCCGTGAGAGCAGGAGCG CTGCGTCCAGGATCT	NM_005 117.2
FGF21	CACCCACGAGTCCAGATCCCTAGCCCTACTCCCTCAGACCCAGGAGTCCAGAC CAAAGCTCCCTCCTCCCTCAGACCCAGGAGCCCAAGTTCCCCAGCCCTCCTCCC TCAGATCCAGGAGTACAGGCCAGACCCTCCTCCCTCAGACCCAGGAGTCCAGG CCCCCACCCCTCCTCCCTCAGACCCAGGAGTCCAGAGCCCCAGCCCTCCTCCCT CAGACACAGAAGGCCTACCCTTGACCCTTAGGGGCTCCAGGAAATTAGCCAAC CTGTCTCCCTCTGGGTGCCACTCCAGGGCCTGGCTTGGCTGCCAACTCCAGTC AGGGACTTTCAGCCACCCCTCCCCCAGGTTATTTTCAGGAGCACCTGCCCTGGG CCTGGGATGGCTTCTCTGGTGAAAGAAACACCAGGATTGCATCAGGGAGGAGG AGGCTGGGATGTCCAGGGTCTGAGCATCTGAGCAGGGACAGATGAGGTTGAGG TTGGCCACGGCCAGGTGAGAGGCTTCCAAGGCAGGATACTTGTGTCTCAGAT GCGGTGCTTCTTTTCATACAGCAATTGCCGCTTGTGAGGATCAAGGAACCTC AGTGTC	NM_019 113.3
FGF23	CGGCAAAAAGGAGGGAATCCAGTCTAGGATCCTCACACCAGTACTTGCAAGG GAGAAGGAAAAGGCCAGTAAGGCCTGGGCCAGGAGAGTCCCGACAGGAGTGTG AGGTTTCAATCTCAGCACCAGCCACTCAGAGCAGGGCACGATGTTGGGGGCC GCCTCAGGCTCTGGGTCTGTGCCTTGTGCAGCGTCTGCAGCATGAGCGTCTCA GAGCCTATCCCAATGCCTCCCCACTGCTCGGCTCCAGCTGGGGTGGCCTGATCC ACCTGTACACAGCCACAGCCAGGAACAGTACCACCTGCAGATCCACAAGAAT GGCCATGTGGATGGCGCACCCCATCAGACCATCTACAGTGGCCTGATGATCAGA TCAGAGGATGCTGGCTTTGTGGTGATTACAGGTGTGATGAGCAGAAGATACCTC TGCATGGATTTTCAGAGGCAACATTTTTGGATCACACTATTTTCGACCCGGAGAA CTGCAGGTTCCAACACCAGACGCTGGAAAACGGGTACGACGTCTACCACTCTC CTCAGTATCACTTCTGGTCACTCTGGGCCGGGCGAAGAGAGCCTTCTGCCAG GCATGAACCCACCCCGTACTC	NM_020 638.2

Таблица 2.

Возможные сайты связывания для пептидов KE, KED, AEDG в промоторных участках генов FGF19, FGF21 и FGF23 мыши (*Mus musculus*)

Ген	Регуляторный участок гена, range -120 to 100 bp (кДНК 5'→3')	GenBank №
FGF19	CTGTGCGAGCAGTAACTCTGTGCGCCCCACGCCACAAGCGCCAGTTGCTTTGT GGGTTGTGCTGCCCTGCAACTTGTGAGTCCCCGCCGATCGCAGTCTCC GCGCCACCTTTGTAACGGCCTTCAGGACCCGAGGTGTGATGGCGAGAAAGTGG AACGGGCGTGCGGTGGCCGAGCCCTGGTCTGGCCACTCTGTGGCTGGCTGTG TCTG	NM_008 003.2
FGF21	AGACAGCCTTAGTGTCTTCTCAGTGGGGATTCAACACAGGAGAAACAGCCATT CACTTTGCCTGAGCCCCAGTCTGAACCTGACCCATCCCTGCTGGGCACCGGAGT CAGAACACAATTCAGCTGCCTTGGCTCCTCAGCCGCTCGCTTGCCAGGGGCTC TCCCGAACGGAGCGCAGCCCTGATGGAATGGATGAGATCTAGAGTTGGGACCC TGGGA	NM_020 013.4
FGF23	GAATCTAGCCCAGGATCCCCACCTCAGTTCTCAGCTTCTCCTAGGAAGAAGAG AAAGGCCAGCAAGGGCCAGCCTGTCTGGGAGTGTGAGATTTCAAACCTCAGCA	NM_022 657.4

TTAGCCACTCAGTGCTGTGCAATGCTAGGGAC <b>CCTGCC</b> TTAGACTCCTGGTGGGC GTGCTCTGCACTGTCT <b>GCAG</b> CTTGGGCACTGCTAGAGCCTATCCGGACACTTCC CCATT	
--	--

Примечание к таблицам 1 и 2: **жирным курсивом** выделены сайты связывания для пептида KED; **нижним подчеркиванием** выделены сайты связывания для пептида KE; **жирным шрифтом** выделены сайты связывания для пептида AEDG. В правой графе указан номер гена в базе данных GenBank.

Как видно из приведенных данных в промоторе гена FGF19 *H. sapiens* находится 3 сайта связывания для пептида KE, представленные последовательностями GCAG и GACG, 1 сайт связывания для KED в виде последовательности CCTGCC и 1 сайт связывания СТТТА для пептида AEDG (табл. 1). В промоторе гена FGF19 *M. musculus* находится 2 сайта связывания для пептида KE, представленные последовательностью GCAG и 1 сайт связывания для KED в виде последовательности CCTGCC (табл. 2).

Анализ промоторного участка гена FGF21 *H. sapiens* указывает на наличие 2 сайтов связывания для пептида KE в виде последовательности GCAG, 1 сайта связывания CCTGCC для пептида KED и 1 сайта связывания АТТТС для пептида AEDG. В промоторной области гена FGF21 *M. musculus* найден 1 сайт связывания для пептида KE, представленный последовательностью GCAG.

Для промоторного участка гена FGF23 *H. sapiens* обнаружено 8 сайтов связывания для пептида KE, представленных последовательностями GCAG и GACG, 1 сайт связывания CCTGCC для пептида KED и 2 сайта связывания АТТТС для пептида AEDG. Ген FGF23 *M. musculus* содержит в своем промоторе по 1 сайту связывания для каждого из пептидов KE, KED, AEDG в виде последовательностей GCAG, CCTGCC и АТТТС.

Как видно из представленных данных, в промоторах гонов человека и мыши имеются сайты связывания для всех трех изучаемых нами пептидов. Представленные нами данные позволяют предполагать, что геропротекторное действие пептидов KE, KED, AEDG может быть обусловлено эпигенетическим воздействием на экспрессию так называемых белков "молодости", в том числе и суперсемейства FGF19, FGF21 и FGF23 и открывает новые перспективы изучения влияния пептидов на факторы роста фибробластов, имеющее большое фундаментальное и практическое значение для молекулярной геронтологии, косметологии и регенеративной медицины.

### Список литературы

1. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Тарновская С.И. и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 2015. - Т. 160, № 9. - С. 332-334.
2. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Тарновская С.И. и др. // Успехи современной биологии. - 2015. - № 4. - С. 370-379.
3. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Тарновская С.И. и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 2014. - № 1. - С. 89-93.
4. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С. и др. // Успехи геронтологии. - 2014. - Т. 27, № 1. - С. 108-114.
5. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С. и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 2012. - № 9. - С. 391-396.
6. Чалисова Н.И., Линькова Н.С., Жекалов А.Н. и др. // Успехи геронтологии. - 2014. - Т. 27, № 4. - С. 699-703.
7. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. // Biogerontology. - 2010. - № 11. - P. 139-149.
8. Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J. et al. 2009. GenBank. Nucleic Acids Research. 37 (Database issue). D26-31. doi:10.1093/nar/gkn723.
9. Itoh N., Ohta H., Konishi M. // Front Endocrinol (Lausanne). - 2015. - Vol. 6. - P. 154-159.
10. Kim J.H., Hwang K.H., Park K.S. et al. // J Lifestyle Med. - 2015. - Vol. 5, № 1. - P. 1-6.
11. Koyama D., Sato Y., Aizawa M. et al. Soluble  $\alpha$ Klotho as a candidate for the biomarker of aging // Biochem Biophys Res Commun. - 2015. - Vol. 67, № 4. - P. 1019-25.
12. Leng Y., Wang Z., Tsai L.K. et al. // Mol Psychiatry. 2014. doi: 10.1038/mp.2013.192. Epub ahead of print.
13. Nabeshima Y. // Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. - 2009. - Vol. 85, № 3. - P. 125-141.
14. Roesch S.L., Styer A.M., Wood G.C. et al. // PLoS One. 2015. 10:e0116928.10.1371/journal.pone.0116928.
15. Wu X., Li Y. // Aging (Albany NY). - 2009. - Vol. 1, № 12. - P. 1023-1027.

### The list of references

1. Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Tarnovskaya S.I., Linkova N.S. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2015, no. 9, pp. 332-334.
2. Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Tarnovskaya S.I., Linkova N.S. *Biology Bulletin Reviews*, 2015, no. 4, pp. 370-379.
3. Khavinson V.Kh., Linkova N.S., Tarnovskaya S.I., Umnov R.S., Elashkina E.V., Durnova A.O. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, no. 1, pp. 89-93.

4. Khavinson V.Kh., Tarnovskaya S.I., Linkova N.S., Gutop E.O., Elashkina E.V. *Advances in Gerontology*, 2014, no. 1, pp. 108-114.
5. Khavinson V.Kh., Tarnovskaya S.I., Linkova N.S., Pronjaeva V.E., Shataeva L.K., Yakutseni P.P. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2012, no. 9, pp. 332-334.
6. Chalisova N.I., Linkova N.S., Zhekalov A.N., Orlova A.O., Ryzhak G.A., Khavinson V.Kh. *Advances in Gerontology*, 2014, no. 4, pp. 699-703.
7. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. // *Biogerontology*. - 2010. - № 11. - P. 139-149.
8. Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J. et al. 2009. GenBank. *Nucleic Acids Research*. 37 (Database issue). D26–31. doi:10.1093/nar/gkn723.
9. Itoh N., Ohta H., Konishi M. // *Front Endocrinol (Lausanne)*. - 2015. - Vol. 6. - P. 154-159.
10. Kim J.H., Hwang K.H., Park K.S. et al. // *J Lifestyle Med*. - 2015. - Vol. 5, № 1. - P. 1-6.
11. Koyama D., Sato Y., Aizawa M. et al. Soluble  $\alpha$ Klotho as a candidate for the biomarker of aging // *Biochem Biophys Res Commun*. - 2015. - Vol. 67, № 4. - P. 1019-25.
12. Leng Y., Wang Z., Tsai L.K. et al. // *Mol Psychiatry*. 2014. doi: 10.1038/mp.2013.192. Epub ahead of print.
13. Nabeshima Y. // *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. - 2009. - Vol. 85, № 3. - P. 125-141.
14. Roesch S.L., Styer A.M., Wood G.C. et al. // *PLoS One*. 2015. 10:e0116928.10.1371/journal.pone. 0116928.
15. Wu X., Li Y. // *Aging (Albany NY)*. - 2009. - Vol. 1, № 12. - P. 1023-1027.