

## ЕПИГЕНЕТИКА НА СТАРЕЕНЕ

*Г. Богданов, Р. Методиева и Н. Бояджиева*

*Катедра по фармакология и токсикология, Медицински факултет, Медицински университет – София*

## EPIGENETICS OF AGING

*G. Bogdanov, R. Metodieva and N. Boyadjieva*

*Department of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty, Medical University – Sofia*

**Резюме.** Стареенето е физиологичен процес, асоцииран с различни остри и хронични заболявания. При хората над 60-годишна възраст се срещат много по-често нервно-дегенеративни, сърдечно-съдови, метаболитни и злокачествени болести, като обикновено се активират гени, отговорни за стареенето. През последните години има нови проучвания върху епигенетичните механизми в развитието на различни болести, в това число и тези, свързани със стареенето. Цел на настоящия обзор е да представи данни от експериментални проучвания относно ролята на епигенетични механизми в развитието на заболявания, свързани със стареенето.

**Ключови думи:** епигенетика, стареене, нервно-дегенеративни, сърдечно-съдови, метаболитни, злокачествени заболявания

**Адрес за кореспонденция:** Д-р Георги Асенов Богданов, Катедра по фармакология и токсикология, Медицински факултет, Медицински университет, ул. Здраве 2, 1431 София, e-mail: dr.georgi.bogdanov@mail.bg, GSM: 0889501994

---

**Summary.** Aging is a physiological process which is associated with different acute or chronic diseases. It is well documented that the frequency of cardiovascular, neurodegenerative, metabolic and malignant diseases increases in people over 60 years of age. All of these diseases have different pathophysiological mechanisms but also there is a common element – genes responsible for aging. In the recent years there is increased research on the epigenetic mechanisms involved in the pathogenesis of many diseases, including the ones connected with aging. Epigenetics studies the changes in the genome which do not alter the DNA sequence. Target for epigenetic changes are the histones which determine the stability of the DNA and the expression of different genes. The aim of the current review is to present the published data for the epigenetic mechanisms of aging and the related chronic diseases.

**Key words:** epigenetics, aging, neurodegenerative, cardiovascular, metabolic, malignant diseases

**Address for correspondence:** Georgy Asenov Bogdanov, MD, Department of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty, Medical University, 2 Zdrave St., Bg – 1431 Sofia, e-mail: dr.georgi.bogdanov@mail.bg, GSM: +359 889501994

---

### ВЪВЕДЕНИЕ

Стареенето е физиологичен процес, който се свързва с различни остри и хронични заболявания. Добре документирано е, че честотата на сърдечно-съдовите, нервно-дегенеративните,

метаболитните и злокачествените заболявания се увеличава при хората след 60-годишна възраст. Различни са механизмите за всяко едно от посочените заболявания, но всички те имат общ елемент и това са гени, отговорни за стареене.

През последните години се увеличиха проучванията върху епигенетични механизми в патогенезата на различни заболявания, включително и тези, свързани със стареене. Епигенетиката изучава промените в генома, които не са свързани с промени в ДНК секвенцията. Таргет за епигенетични промени са хистоните, структури в хроматина, които като пръстени обхващат ДНК и определят нейната стабилност. Три са основните епигенетични механизми, които имат роля както във физиологични механизми на програмиране и развитие на човека, така и в патогенезата на заболявания: ДНК метилиране, модификации на хистони, промени в micro-RNA. Различни фактори на околната среда повлияват молекулни механизми в различни органи в процеса на стареене (хранене, промени във външната температура, радиация, пестициди, химични замърсители и др.). Същите тези фактори имат роля в епигенетичните промени при стареене. Водещи в епигенетиката са ДНК метилиране, модификации на хистоните, които се проявяват при редица хронични заболявания при възрастни хора [12, 22, 24, 28, 32, 33].

**Целта на настоящия обзор** е да се анализират публикуваните в литературата факти за епигенетичните механизми на стареене и свързаните със стареенето хронични заболявания.

### **1. Роля на епигенетичните промени в развитие на нервно-дегенеративни заболявания при стареене**

Нервно-дегенеративните заболявания са често при възрастни хора и се проявяват с различна форма на старческа деменция (вкл. от алцхаймеров тип), паркинсонова болест, исхемичен мозъчен инсулт, латерална амиотрофична склероза, мултипла склероза, глаукома и др. Например Андонова и сътр. анализират, че обемът на бялото мозъчно вещество (релативно към интракраниалния обем) се увеличава до средна възраст, но впоследствие значимо намалява [1]. Характерна е загуба на неврони и намаляване на когнитивните функции на мозъка. Генетично са установени много гени с роля в посочените заболявания. Генетични фактори и такива от околната среда вероятно са отговорни и за развитието на дегенерацията на макулата. Така например Хайвазов и сътр. демонстрират, че дегенерацията на макулата, свързана с възрастта, е водеща причина за необратима загуба на централно зрение при индивидите в напреднала и старческа възраст, живеещи в развитите страни [3]. Епигенетичните промени засягат някои гени, които са свързани със синапсна пластичност на мозъка, и други гени, отговорни за апо-

птоза на мозъчни клетки и възпаление в мозъка. Връзката между остаряване и невродегенерация се подкрепя от данните за епигенетични промени в някои модели при мишки. При тях се използват инхибитори на ензими, участващи в епигенетично моделиране на хистоните. Например: инхибитори на ензимите от група на хистон деацетилази (HDAC) са прилагани за терапия на мишки с модел на невродегенеративно заболяване и характеристика на заболяване на Алцхаймер. Фармакологичните средства – инхибитори на HDAC, са показали способност за подобряване на паметта на мишките и на състоянието на експерименталното заболяване на Алцхаймер при тях. Guan и сътр. (2009) документират, че фармакологични средства – селективните инхибитори на ензими от групата на HDAC2, негативно регулират синапсната пластичност и гени, отговорни за паметта. В подкрепа на твърдението за роля на епигенетични модификации в нервно-дегенеративните механизми на мозъка са изследванията на колектив на Kim и сътр. (2007), които документират, че ензимите от група SIRT1 деацетилази протектират развитието на невродегенерация при 2 експериментални модела на мишки: модел на заболяване на Алцхаймер и на амиотрофична латерална склероза. Това е новост в експерименталната неврология относно възможността за приложение на епигенетични лекарства. На база изучаване на епигенетиката в различни тъкани и органи се разви нов дял във фармакологията „епигенетични фармакологични средства“, които се представляват от противотуморни лекарства, разрешени в различни държави. Опитите да се използват подобни фармакологични вещества – инхибитори на HDAC и съответно потискащи активността на важна група ензими с роля в хиперацетилиране на хистони за гени, отговорни за памет и когнитивни функции, са новост в науката и дават направление за търсене на нови лекарства за лечение на старческа деменция и нервно-дегенеративни заболявания.

### **2. Епигенетични промени при стареене, свързани с развитие на ракови заболявания**

Стареенето е един от водещите рискови фактори за увеличена честота на различни видове ракови заболявания (на простатната жлеза, млечната жлеза, черния дроб, панкреаса и много други). Връзката между стареене и ракови заболявания се документира от много автори на базата на различни молекулярнобиологични, клинични, биохимични и генетични изследвания. Новост в науката са епигенетичните промени, които се откриват в някои гени по време на стареене. По-горе посочихме, че епигенетиката заема място в

онкологията и чрез изучаване епигенетиката на тумори се създадоха нови противотуморни лекарства. При стареене се отчита връзка между хипометилиране на специфични гени, като протоонкогени, и увеличена чувствителност на клетки и тъкани, включително риск от развитие на тумори [14, 26, 31, 34]. Допуска се, че по-значим риск за развитие на ракови заболявания има при тези индивиди, при които съществува съчетание между хипометилиране на протоонкогени и хиперметилиране на туморни супресорни гени. Тези изследвания поставиха въпроса дали в хода на остаряване не се проявяват епигенетични промени, които имат роля в патогенезата на някои видове рак. При стареене са отчетени промени в хроматина в различни тъкани, които засягат някои гени, участващи в механизми на рак [4, 24]. Използван е модел за ремоделиране на хроматина, чрез който се търсят възможните епигенетични промени в някои гени, свързани с чувствителност на клетките към тумороактивни фактори на външната среда, като радиация, екологични замърсители и др. Оксидативният стрес също играе важна роля в епигенетичното повлияване на някои онкологични заболявания. С напредване на възрастта силно зачестяват малигнените заболявания, което в голяма степен е свързано с намаление на имунитета. Маджабин и сътр. демонстрират, че загубата на експресия на митохондриални туморосупресивни гени е свързана с повишено образуване на плоскоклетъчни карциноми на главата и шията [20]. Те установяват, че дерегулацията на митохондриалните туморосупресивни гени (SIRT3, SIRT4 и MTUS1) във връзка с намалена експресия на митохондриалния ДНК-възстановяващ ген OGG1-2a и увеличена пролиферация (измерена чрез маркера Ki-67) може да се смятат за важни фактори в развитието плоскоклетъчни карциноми на главата и шията.

### **3. Хипотеза за „епигенетичен часовник”, който определя степента и бързината на стареене**

Водещи органи, които са таргет за изследвания върху механизми на стареене при човека, са сърцето и бъбреците. Благодарение на изследвания върху *Caenorhabditis elegans* (модел на система за тестване на бъбреци и ролята на възрастта върху тяхната функция) се получиха различни факти, подкрепящи хипотезата, че в хода на стареене настъпват промени в генната експресия [6, 19, 22, 33]. Публикуван е транскрипционният профил на стареене в човешки бъбрек [22]. Документирана е ролята на транскрипционни фактори в групата на *elt-3/elt-5/elt-6* GATA при

стареене на *Caenorhabditis elegans*. Колектив от E. L. van Nostrand и сътр. (2013) публикува ролята на *unc-62/homothorax* като регулатор в развитието и стареенето на *Caenorhabditis elegans*. В подкрепа на хипотезата за „епигенетичен часовник” са изследванията върху ролята на транскрипционни фактори от семейството на GATA (транскрипционни фактори, свързващи се с ДНК последователността GATA). Доказано е, че тяхната експресия се намалява значимо с напредване на възрастта. Чрез спиране функцията на тези транскрипционни фактори се е увеличила продължителността на живот при експериментални модели на *Caenorhabditis elegans* и се е постигнало подмладяване на възрастовите форми. Това са съвременни и важни доказателства, защото е документирана ролята на GATA транскрипционни фактори в механизми на възпаление на бъбрек. Епигенетичните промени на тези фактори, предизвикващи спиране на тяхната функция, имат роля в механизмите на взаимодействие между възпаление, стареене и възрастово зависима намалена функция на бъбрека. Посочените погоре резултати за епигенетичен транскрипционен механизъм в стареене на човешки бъбрек и модел на *Caenorhabditis elegans* са ново направление в науката, което води към подмладяване на „транскриптома” на клетките или тъканите. Чрез епигенетични изследвания се документират възможности за забавяне на стареенето чрез повлияване на транскрипционни фактори, които са важни за функцията на много клетки в човешкия организъм [27, 30].

### **4. Епигенетични механизми на стареене и свързани с тях ендокринни промени**

Генетичните и епигенетичните механизми на захарен диабет са публикувани в литературата, включително от нас [2]. Връзката на стареенето с увеличаване честотата на захарен диабет също се обсъжда в редица изследвания. Инсулиновата резистентност е важна характеристика както на стареенето, така и на захарен диабет тип 2 (ЗД2). Известно е, че глюкокиназата е водещ ензим в усвояване на глюкозата от черния дроб и нейната активност се понижава при пациенти със ЗД2 [7]. Сравнителните проучвания при експериментални плъхове (млади и възрастни) показват, че със стареенето се редуцира експресията на гена за глюкокиназа и съответно активността на ензима, което корелира с увеличаване на ДНК метилиране в промотера за глюкокиназа [15]. Когато хепатоцити от възрастни плъхове са развити в клетъч-

ни култури и ДНК е химически деметилирана, е установена увеличена експресия на глюкокиназа. Взети заедно, изследванията върху чернодробната инсулинова резистентност и ролята на ДНК метилиране на гени в хепатоцити за механизми на стареенето и механизми на развитие на ЗД2 документират значението на епигенетичните промени за развитието на ЗД2 при някои възрастни пациенти.

При стареене са отчетени както хиперметиране в гени в различни тъкани, така и хипометилиране на други гени, което има значение за развитие на ЗД2 и ракови заболявания [13, 14, 15, 18, 23, 26].

Роля на промени в ДНК метилиране във важни транскрипционни фактори е доказана при изследвания върху NDUF6 промотер и е свързана с увеличено ДНК метилиране, намалена генна експресия и забавяне в метаболизма в периода на стареене [18]. Епигенетичните промени са част от механизмите на промени в човешкия геном, свързани със стареене и риск от патологични нарушения в метаболизма.

При възрастни хора се установяват често хипергликемии, които са временни, но могат да предизвикат епигенетични промени в ендотела на кръвоносните съдове и съответно да се включат в патогенезата на усложнения при захарен диабет [8]. Съвременни са изследванията върху ролята на протеин-деацетилази от семейството на Sirtuin ензими, за които се доказва, че имат протективна роля в развитието на заболявания по време на стареене и допринасят за удължаване на живота. Посочените сиртуинови деацетилази повлияват различни субстрати, включително хистони на различни гени, и тяхната активност се увеличава при нарушен баланс между никотинамид аденин динуклеотид и никотинамид аденин динуклеотид дехидрогеназа. Посоченият нарушен баланс е установен при диетични въздействия, когато е редуцирана храната и пациентите са подложени на различна степен на гладуване. При тези случаи са установени промени в хроматина и епигенетични механизми в повлияване на метаболизма и конкретно на въглехидратната обмяна [10]. Проучванията показват, че релокализация на сиртуини (SIRT) в отговор на ДНК увреждания е причина за епигенетични промени и нестабилност на човешкия геном по време на стареене [5, 11, 29]. Например: документирано е, че малки молекули, които са активатори на сиртуините, удължават живота на *Saccharomyces cerevisiae* [11]. Колектив на J. C. Milne и сътр. публикува резултати от изследвания на малки молекули – активатори на SIRT1, като

терапевтична възможност за лечение на захарен диабет тип 2 [21]. Взети заедно, резултатите от изследванията върху протеини от групите SIRT документират както ролята на епигенетични промени в тези протеини в механизми на стареенето, така и ролята на SIRT в механизми на развитие на ЗД2 при стареене. Опитът да се използват активатори на тези протеини в терапията на експериментален ЗД2 е само начало за по-задълбочени бъдещи изследвания с цел да се потисне рискът от ЗД2 при стареене.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Епигенетични промени на хроматина имат роля в механизми на стареенето. Документирани са промени в ДНК метилиране и модификации на хистони чрез ацетилиране или метилиране в механизми на стареенето и в механизми на хронични заболявания, свързани със стареенето, като нервно-дегенеративни на мозъка, бъбречни заболявания, включително бъбречна недостатъчност, захарен диабет тип 2, ракови заболявания. Проучванията с фармакологични средства, които са инхибитори и активатори на епигенетични промени (основно на ензими, участващи в метилиране или ацетилиране), определят ново направление във фармакологията за търсене на епигенетични лекарства с цел удължаване на живота, намаляване на процесите на стареене и на риска от хронични заболявания, свързани със стареене. Анализът в литературата показва, че хроматинът е таргет за епигенетични промени по време на стареене. Това е ново направление в науката, което се развива с надеждата да се открият най-рано механизмите на стареене, факторите, които ги предизвикват, и да се осигури както профилактика, така и лечение на заболявания, свързани със стареенето. Надеждата в епигенетичните проучвания се подкрепя и от бързото развитие на различни методи, документирани в литературата, за изучаване на епигенетични модификации в гени на различни тъкани. Изучаването на епигенома заедно с генома на стареене е важно направление в медицината.

## Библиография

1. Андонова, П., Минчев, Д. Възрастови промени в бялото мозъчно вещество и риск от мозъчносъдова болест. Невроскопология и мозъчна хемодинамика. 2009;5:47-52.
2. Богданов, Г., Р. Методиева, Н. Бояджиева. Епигенетика на диабет. Ендокринни заболявания. 2015; 2: 3-11.
3. Хайвазов, С., Джамбазова, М., Петкова, И. Възраст, пол, раса и дегенерация на макулата, свързана с възрастта. Офталмология. 2012; 2: 11-30.

4. Adams, P.D. Remodeling chromatin for senescence. *Aging Cell*. 2007;6:425-427.
5. Baurp J.A. et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006;444:337-342.
6. Budovskaya, Y.V. et al. An elt-3/elt-5/elt-6 GATA transcription circuit guides aging in *C. elegans*. *Cell*. 2008;134:291-303.
7. Caro, J.F. et al. Liver glucokinase: decreased activity in patients with type II diabetes. *Horm Metab Res* 1995; 27: 19-22.
8. El-Osta, A. et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J Exp Med* 2008; 205: 2409-2417.
9. Guan, J.S., Haggarty SJ, Giacometti E, et al. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*. 2009;459:55-60.
10. Haigis M.C., D.A. Sinclair. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:253-295.
11. Howitz K.T. et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. 2003;425:191-196.
12. Inukai, S. et al. Novel microRNAs differentially expressed during aging in the mouse brain. *PLoS One*. 2012;7:e40028.
13. Issa, J.P. Age-related epigenetic changes and the immune system. *Clin Immunol* 2003; 109: 103-108.
14. Issa, J.P. The epigenetics of colorectal cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 910: 140-153; discussion 153-155.
15. Jiang, M.H. et al. Hypermethylation of hepatic Gck promoter in ageing rats contributes to diabetogenic potential. *Diabetologia* 2008; 51: 1525-1533.
16. Kato, M. et al. Age-associated changes in expression of small, noncoding RNAs, including microRNAs, in *C. elegans*. *RNA*. 2011;17:1804-1820.
17. Kim, D. et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J*. 2007;26:3169-3179.
18. Ling, C. et al. Genetic and epigenetic factors are associated with expression of respiratory chain component NDUFB6 in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 2007; 117: 3427-3435.
19. Lund, J. et al. Transcriptional profile of aging in *C. elegans*. *Curr Biol*. 2002;12:1566-1573.
20. Mahjabeen, I., Kayani, MA. Loss of Mitochondrial Tumor Suppressor Genes Expression Is Associated with Unfavorable Clinical Outcome in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Data from Retrospective Study. *PLoS One*. 2016; 1: e0146948.
21. Milne, J.C. et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature*. 2007;450:712-716.
22. Rodwell, G.E. et al. A transcriptional profile of aging in the human kidney. *PLoS Biol*. 2004;2:e427.
23. Rönn, T. et al. Age influences DNA methylation and gene expression of COX7A1 in human skeletal muscle. *Diabetologia* 2008; 51: 1159-1168.
24. Shah, P.P. et al. Lamin B1 depletion in senescent cells triggers large-scale changes in gene expression and the chromatin landscape. *Genes Dev*. 2013;27:1787-1799.
25. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1995; 44: 968-983.
26. Toyota, M. et al. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 8681-8686.
27. Van Nostrand, E.L. et al. Roles of the developmental regulator unc-62/homothorax in limiting longevity in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*. 2013;9:e1003325.
28. Wood, J.G. et al. Chromatin remodeling in the aging genome of *Drosophila*. *Aging Cell*. 2010;9:971-978.
29. Wood, J.G. et al. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*. 2004;430:686-689.
30. Xu, X., S.K. Kim. The GATA transcription factor egl-27 delays aging by promoting stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*. 2012;8:e1003108.
31. Youssef, E.M., M.R. Estecio, J.P. Issa. Methylation and regulation of expression of different retinoic acid receptor beta isoforms in human colon cancer. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 82-86.
32. Zahn, J.M. et al. AGEMAP: a gene expression database for aging in mice. *PLoS Genet*. 2007;3:e201.
33. Zahn, J.M. et al. Transcriptional profiling of aging in human muscle reveals a common aging signature. *PLoS Genet*. 2006;2:e115.
34. Zhang, Z. et al. Age-dependent DNA methylation changes in the ITGAL (CD11a) promoter. *Mech Ageing Dev* 2002; 123: 1257-1268.