

# КЛЕТОЧНЫЙ ГЕНОМ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСНОВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА (АТЕРОСКЛЕРОЗ, АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, РАК)

Козлов В.А.

НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

**Резюме.** Несмотря на значительные различия в этиологии, патогенезе, клинико-лабораторных данных, наконец, различия в клиническом течении таких заболеваний, как атеросклероз, аутоиммунные и аллергические заболевания накоплены данные, свидетельствующие о том, что в основе этих заболеваний имеется много общего. В первую очередь это касается механизмов эпигенетической регуляции экспрессии генов, характер изменений которой практически тождественен и проявляется тотальным гипометилированием и возвратным гиперметилированием отдельных генов. Схожими при этих патологиях являются также процессы, связанные с регуляцией длины теломер. Все это ставит вопрос о скорейшей разработке методов лечения данных патологий с помощью препаратов, влияющих на молекулярно-биохимические механизмы, лежащих в основе эпигенетической регуляции экспрессии генов.

*Ключевые слова:* геном, метилирование, теломеры, атеросклероз, рак.

*Kozlov V.A.*

**CELLULAR GENOME IN PATHOGENESIS OF BASIC DISEASES IN HUMANS (ATHEROSCLEROSIS, AUTOIMMUNE DISEASES, CANCER)**

**Abstract.** Despite of considerable differences in etiology, pathogenesis, clinical and laboratory data, and, finally, different clinical features of such diseases as atherosclerosis, autoimmune and allergic diseases, there exists a lot of evidence suggesting that, basically, these disorders have much in common. First of all, it concerns epigenetic regulatory mechanisms of gene expression that show virtually identical patterns of changes, i.e., total hypomethylation and reversible hypermethylation of distinct genes. The events connected with regulation of telomere length are also similar in all the mentioned disorders. In general, this concept draws attention to current needs for urgent development of novel therapeutic approaches for these very common disorders, by means of drugs that would be able to influence some molecular mechanisms, underlying epigenetic regulation of gene expression. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 4-5, pp 285-296)

*Keywords:* genome, methylation, atherosclerosis, telomere, cancer.

Трудно, нет, невозможно себе представить то количество заболеваний, которые приносят страдания современному человеку. Не счесть

алмазов... Среди этого «алмазного» множества все же можно обозначить основные заболевания с точки зрения их ведущего, основополагающего значения в причинах смертности современного жителя планеты Земля: это атеросклероз, это рак, это аутоиммунные и отдельные инфекционные заболевания. И что самое главное, мы еще так очень далеки от окончательного решения проблем этиопатогенеза и терапии этих заболеваний. Естественно, что эти группы основных

## Адрес для переписки:

Козлов Владимир Александрович,  
630090, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: (383) 222-66-27.  
Факс: (383) 222-70-28.  
E-mail: v\_kozlov@online.nsk.su

заболеваний популяции людей принципиально отличаются по их клинической картине, которая, прежде всего, и является основой для постановки соответствующего диагноза. Хотя уже и здесь многие и многие клиничко-лабораторные данные совпадают: боль, температура, сонливость, наличие СРБ, изменение липидного обмена и т. д., и т. д., характерны для, практически, всех этих заболеваний. Здесь необходимо сделать ударное ударение, что в основе патогенеза всех этих когорт заболеваний лежат нарушения функций различных звеньев иммунной системы, нарушения продукции цитокинов и активности ее клеточных элементов. Это с одной стороны. С другой стороны, в каждой из этих патологий имеются клеточные мишени (опухолевая клетка, синовиальный фибробласт, клетки сосудистого эндотелия), через патологию которых и реализуются нарушенные функции иммунной системы. Именно дальнейшее развитие данной двойной «нарушенности» и представит в будущем всю клиничко-лабораторную картину того или иного, конкретного заболевания. Архиважно и то, что рабочей единицей и иммунной системы, и системных мишеней патологий является клетка со всеми ее внутриклеточными структурными и регуляторными организациями. При прочем равном, клеточный геном, его морфофункциональный субстрат ДНК, является определяющим в жизнедеятельности отдельно взятой клетки.

Условно можно представить, что система регуляции экспрессии генов состоит из отдельных компонентов: из непосредственного контроля и из эпигенетической регуляции. Непосредственный контроль осуществляется со стороны активаторов и репрессоров процесса транскрипции, которые характеризуются различными ядерными концентрациями, ковалентными модификаторами и ассоциациями субъединиц. Здесь влияние на экспрессию гена реализуется через процесс транскрипции и стабильность мРНК, связанными с геномной последовательностью ДНК и с возможными изменениями в ней. Эпигенетическая регуляция экспрессии гена, обусловленная изменениями в структуре хроматина путем ковалентной модификации ДНК и гистонов с существенным влиянием метилирования ДНК на структуру хроматина, являющегося главным составляющим эпигенома. При этом метилирование ДНК и деацетилирование гистонов (инактивация хроматина) обуславливают подавление экспрессии гена,

в то время как деметилирование ДНК и ацетилирование гистонов (активация хроматина) индуцируют экспрессию гена [55].

Очевидно, что геном клетки испытывает на себе мощное регуляторное влияние со стороны эпигенома. При этом, если первый идентичен в различных типах клеток и на протяжении жизни клетки, то второй, что принципиально важно, является динамичным по своей сути, варьирует от одного клеточного типа к другому и от одной стадии онтогенеза клетки к другой. Именно эпигеном отвечает за формирование сигналов, связанных с развитием клетки, с ее физиологией, с ее реакцией на окружение и с развитием патологических изменений.

Предполагается, что ацетилиция гистонов является ведущим регуляторным сигналом для формирования конфигурации хроматина. Деацетилиция гистонов приводит к инактивации хроматина. Ацетилиция хвостовой части гистона обуславливает повышение чувствительности генов к взаимодействию с факторами транскрипции, в то время как деацетилиция хвостов в значительной степени ограничивает чувствительность ДНК к факторам транскрипции.

Процесс метилирования ДНК заключается в добавлении метильной группы к цитозину в положении 5 с образованием 5-метилцитозина в пределах CpG (цитозин/гуанин) пары, изменяя при этом ряд характеристик ДНК в виде увеличения шага спирали ДНК и увеличения ее гидрофобности, что может иметь решающее значение для эффективного взаимодействия белков с соответствующими участками ДНК. В норме эти островки сохраняются, как правило, в неметилированном состоянии и являются мишенями для белков, которые связываются с неметилированными CpG и инициируют транскрипцию гена [45]. Следует всегда иметь в виду, что метилирование, хотя и является стабильной и наследуемой модификацией, в принципе обратимо под воздействием деметилирующих агентов или ферментов.

В общебиологическом плане феномен метилирования является элементом системы распознавания, выполняя защитную функцию, направленную на предохранение организма от чужеродной ДНК и избытка эндогенных повторяющихся последовательностей. Возможно, здесь мы имеем дело с эволюционным прообразом иммунной системы с ее механизмами узнавания чужеродного и избавлением организма от генетически чужеродного. По крайней мере

показано, что генетической инактивации путем метилирования подвержены ДНК из внешней среды вирусного происхождения или введенные в клетку с помощью трансфекции. Получены данные о том, что интеграция ДНК аденовирусов и гепатита В в геном клетки сопровождается их постепенным метилированием [2, 54]. В нормальных клетках ДНК метилирование в основном имеет место в повторяющихся геномных областях, включая сателлитные ДНК и паразитирующие элементы, такие как длинные (LINES) и короткие (SINES) разбросанные транспозиции, а также эндогенные ретровирусы [60]. В глобальном плане метилирование ДНК регулирует фундаментальные биологические феномены, такие как экспрессия генов, геномный импринтинг и инактивация X хромосомы.

Касаясь связей опухолевых процессов с метилированием ДНК в клетках следует отметить следующие основополагающие моменты. Прежде всего, необходимо подчеркнуть, что туморогенез является мультистадийным процессом, где принимают участие как генетические, так и эпигенетические изменения, которые и индуцируют прогрессивную трансформацию нормальных клеток в опухолевые с приобретением инвазивных свойств. Признано считать правильным утверждение о ведущей роли в опухолевой трансформации клеток тотального гипометилирования ДНК с последующей активацией генов, дерепрессией повторяющихся элементов и нестабильностью хромосом. Показано, что дерепрессии подвергаются целый ряд онкогенов (н-р, *c-myc*, *h-ras*), генов опухолевых антигенов (*mage*, *sage*, *cage*), функция которых еще не достаточна ясна, гены ретровирусного генома [18]. Крайний интерес представляют данные о том, что на фоне гипометилирования регистрируется гиперметилирование отдельных генов, роль которых в генезе опухолевого роста трудно переоценить. Прежде всего это касается генов онкосупрессоров, отдельных генов, регулирующих клеточный цикл (например, *ink4A*), генов апоптоза [33]. Предполагается, что оценка процесса метилирования ряда генов (например, генов домашнего хозяйства) может стать ранним диагностическим признаком развития опухоли (например, рака легких) [41], или ценке уровня метилирования генов *MINT1*, *MINT2*, *MINT31* и др. [48]. В одних и тех же опухолевых клетках метилирование может касаться целого ряда генов, имеющих непосредственное отношение к возможному ингибированию роста этих

клеток. На примере клеток нейробластомы показано, что метилированию подвергаются такие гены, как ядерный рецептор 112, ген *CRABP1* — кандидат на роль опухолевого супрессора, ген белка теплового шока 47, ген *CD44* и, наконец, ген рецептора 2 простагландина Е, подавление экспрессии которого обуславливает потерю чувствительности опухолевых клеток к ингибирующему эффекту лиганд, действующих через данный рецептор [51].

Несомненно, что атеросклероз, со всеми его проявлениями в виде инфаркта миокарда, инсульта и т.д., как и онкология, занимает ведущее место среди патологий современного человека. Если коротко, то атеросклероз характеризуется миграцией и пролиферацией гладкомышечных клеток в артериальных стенках, накоплением липидов, образованием соединительной ткани, наличием воспалительных клеток и кальцификацией. В стенках сосудов отмечается утолщение интимы в ответ на какое-либо повреждение, будь то механическое повреждение или действие какого-нибудь эндогенного фактора, что и обуславливает появление дисфункции эндотелия и усиление миграции и пролиферации гладкомышечных клеток. Интересно, что вследствие пролиферации клеток и моноклональности, по крайней мере некоторых клеток в участке повреждения, атеросклеротические повреждения сравниваются с сосудистыми опухолями. В этом отношении представляют значительный интерес сравнительные данные о метилировании ДНК при развитии атеросклероза и в процессе онкогенеза. Оказалось, что также как и при опухолевом росте гладкомышечные клетки пораженных сосудов характеризуются тотальным гипометилированием ДНК в ходе деления. Это было показано как на примере пораженных участков стенок сосудов у человека, у нокаутированных по гену *ApoE* мышей, так и у кроликов, вскормленных на холестериновой диете [15]. При этом определялась повышенная экспрессия протоонкогенов *PDGF* (фактор роста В тромбоцитарного происхождения) и *c-myc*. Белок последнего в атеросклеротических каротидных артериях у человека определялся в значимо высоком проценте клеток [29]. По всей вероятности, гипометилиация при атеросклерозе, также как и при раке, вносит свой вклад в патогенез заболевания индуцируя хромосомную нестабильность, затрагивая такие специфические гены, имеющие отношение к развитию заболевания, как гены

15-липоксигеназы и внеклеточной супероксид дисмутаза [16].

Также как и при опухолевом росте, при атеросклерозе отмечается гиперметилование отдельных генов. Это касается такого важного гена для развития атеросклероза и старения в целом, как ген эстрогенового рецептора- $\alpha$  на гладкомышечных клетках [40]. Именно наличие этих рецепторов на клетках позволяет реализовать антипролиферативный эффект эстрогенам на гладкомышечные клетки, тем самым оказывая кардиоваскулярную протекцию, а подавление экспрессии гена рецепторов будет способствовать индукции пролиферации этих клеток, тем самым способствуя развитию атеросклероза [59]. Кроме того, активированные эстрогеновые рецепторы увеличивают экспрессию/активность NO-синтазы, а, следовательно, и продукцию NO самого, который также обладает способностью ингибировать пролиферацию клеток гладких мышц в сосудах. Получается, что гиперметилование одного гена тянет за собой уже цепочку событий, обладающих антиатеросклеротическим эффектом [9]. Кстати, гиперметилование гена эстрогенового рецептора может быть одним из ранних событий развития опухоли прямой кишки, быть характеристикой рака грудной железы с отсутствующими рецепторами к эстрогенам в опухолевой ткани [40]. Возможно, это нельзя не иметь в виду предполагаемой общей, основополагающей причины возникновения таких заболеваний, как атеросклероз и рак.

Предполагается, что гипометилирование ДНК в клетках периферической крови при атеросклерозе, а не только в клетках непосредственно тканевых мишеней заболевания, вносит свой вклад в патогенез, учитывая данные об участии иммунной системы в патогенезе атеросклероза [9].

В настоящее время в мире диагностируется более 84 нозологических форм аутоиммунных заболеваний, патогенез которых, так или иначе, связан с реакциями иммунной системы против собственных антигенов, разгадка механизмов которых (реакций) до сих пор остается весьма проблематичной. Интересной представляется одна из гипотез, основанной на увеличенной скорости апоптоза при СКВ циркулирующих лимфоцитов и моноцитов с последующим иммунным узнаванием ауто-антигенов, появившихся в циркуляции в результате апоптоза, и индукцией образования ауто-Ат. На мышах было

показано, что с помощью апоптотической ДНК, но не некротической, можно индуцировать развитие СКВ-подобного заболевания, где уровень антител против ДНК четко связан с уровнем введенной апоптотической ДНК. Оказалось, что апоптотическая ДНК характеризуется выраженным гипометилированием, по сравнению с нормальной или некротической ДНК. Метилирование апоптотической ДНК значительно уменьшает ее способность индуцировать образование Ат к ДНК. В то же время, деметилирование нормальной или некротической ДНК обуславливает повышение их иммуногенности для индукции СКВ-подобного синдрома [57]. Эти данные говорят об обоснованной возможности участия описанного механизма в патогенезе СКВ. При этом имеющиеся многочисленные данные свидетельствуют о тотальном гипометилировании CD4<sup>+</sup> Т-клеток при СКВ у человека, скорее всего, в результате снижения активности ДНК метилтрансферазы-1 [4, 46]. Предполагается, что гипометилированные Т-лимфоциты приобретают способность индуцировать развитие аутоиммунных реакций. Здесь возможно участие повышенной экспрессии на Т-клетках рецепторов адгезиновых молекул типа LFA-1.

Кроме того, с повышенной экспрессией на Т-клетках CD70 связывают способность этих клеток обуславливать избыточную стимуляцию В-клеток. Есть несколько поводов говорить о важной роли в патогенезе СКВ метилирования ДНК, среди которых можно отметить: возможность индукции СКВ-подобного аутоиммунного состояния с помощью гипометилированных CpG мотивов и наличие таких мотивов в сыворотке больных СКВ; доказательство имеется гипометилирования ДНК лимфоцитов (особенно Т-клеток) у больных СКВ на фоне сниженной экспрессии мРНК ДНК метилтрансферазы-1; наличие данных о возможности индукции СКВ-подобного синдрома *in vivo* и *in vitro* с помощью деметилирующих агентов, таких как 5-aza-C; существуют тесные взаимоотношения между метилированием ДНК и волчанкой, индуцированной лекарством; с гипометилированием тесно связано активация ретровирусного генома при СКВ, что имеет существенное отношение к этиологии СКВ [46]. На фоне тотального гипометилирования при аутоиммунных заболеваниях обнаруживается гиперметилование отдельных генов. Это было показано в отношении HLA-DR альфа гена в В-клетках при СКВ со сниженной экспрессией DR антигена на клеточной по-



верхности [44], а также в отношении апоптотического гена DR3 в синовиальных клетках при ревматоидном артрите, что может обуславливать резистентность последних к апоптозу [52]. Гиперметилирование, а, следовательно, и «молчание» гена IL-10, мощного противовоспалительного цитокина, было обнаружено в клетках периферической крови больных РА. Выдвигается предположение о значимой роли этого факта в патогенезе РА с его преимущественной активностью Th1 клеток [13]. Сама по себе возможность индукции аутоиммунного процесса в организме реципиента Т-клеток, подвергнутых процедуре гипометилирования ДНК уже говорит о многом с точки зрения возможных механизмов аутоиммунных заболеваний. По крайней мере, в каком-то роде можно исключить и из этиологии, и из патогенеза индуцирующую роль каких-либо аутоантигенов или антигенов другой природы, поскольку они оставались неизменными до и во время переноса реципиентам Т-клеток.

Имеются достаточно многочисленные литературные данные, предполагающие значимую роль процесса метилирования ДНК в патогенезе РА. Более того, агрессивное и инвазивное поведение синовиальных фибробластов (СФ) при РА и их повышенная резистентность к апоптозу дает основание обозначить их как клетки с фенотипом, подобным опухолевому. Отмечается, что гиперметилирование гена Death рецептора в СФ обуславливает их резистентность к апоптозу. Обработка СФ ингибитором гистоновых деацетилаз trichostatin A индуцирует чувствительность СФ к апоптозу [11]. В СФ определяется повышенная экспрессия гена FLIP (Flice inhibitory protein), имеющего отношение к повышенной инвазивной активности СФ вследствие гипометилирования в их промоторе. А само повышение экспрессии FLIP индуцирует экспрессию генов p38 $\delta$  митоген-активированной протеин киназы, cMet рецептора и галектин 3-связывающего белка также имеющие отношение к активации СФ. По мнению авторов, все это может свидетельствовать о существенном вкладе гипометилирования ДНК в патогенез РА. Более того, предполагается, что гипометилирование гена фактора транскрипции NF- $\kappa$ B и обуславливает его повышенную активность в отношении индукции экспрессии генов провоспалительных цитокинов? из которых IL-6 может сам участвовать в повышении метилирования генов p53 и hHR23B. Продукт последне-

го имеет прямое отношение к репарации ДНК. Здесь нет надобности говорить о ведущей роли в патогенезе РА таких провоспалительных цитокинов, как TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6.

Что касается аллергии, проявления которой регистрируется уже практически у каждого пятого жителя на планете Земля, с точки зрения метилирования ДНК, то здесь еще нет такой четкости по сравнению, скажем, с онкогенезом. При аллергических заболеваниях не сложились четко такие понятия как тотальное гипометилирование и гиперметилирование отдельных генов. Работы в основном касаются метилирования генов отдельных цитокинов, таких как IL-4 и IFN $\gamma$ , роль которых в патогенезе аллергических заболеваний противоположна по патогенетической значимости. Например, при бронхиальной астме была обнаружена корреляция между степенью гипометилирования ДНК в CD4<sup>+</sup> лимфоцитах и концентрацией IL-4 после стимуляции аллергеном [21]. И все же, при оценке уровня мРНК фермента ДНК метилтрансферазы в мононуклеарных клетках периферической крови у больных атопическим дерматитом было выявлено значительное снижение его активности, особенно у пациентов с высоким уровнем IgE [37]. Возможно, это дает основание говорить, осторожно, о тотальном гипометилировании ДНК как характеристики аллергических заболеваний.

И все же, несмотря на недостаточность четких данных по отдельным патологиям, входящих в группу основных заболеваний современного человека (рак, атеросклероз, аутоиммунные и аллергические заболевания), несмотря на ясно обозначенные различия в иммунопатогенезе данных заболеваний и в их этиологии, имеются основания говорить о базисной тождественности их патогенеза. Последняя заключается в нестабильности генома различных клеток при данных патологиях, индуцированное такими механизмами, как метилирование ДНК и деацетилирование гистонов, обуславливающих эпигенетическое «замолкание» генов; тотальное деметилирование ДНК и ацетилирование гистонов. Т.е., имеются изначально общие биохимические механизмы проявления эпигенотипа, которые хоть и являются участниками формирования «патологической» особенности конкретного фенотипа, но они должны быть мишенью возможной коррекции этих «ненормальных» процессов. Следовательно, терапия должна снижать распространенность по геному тоталь-

ного гипометилирования, это с одной стороны. С другой стороны, должны быть разработаны средства участвующие в процессах деметилирования «умолкнувших» генов, принимающих позитивное влияние в торможении развития того или иного заболевания.

Что касается последних, то такой ингибитор метилирования ДНК как 5-azacytidine уже утвержден FDA для лечения миелодисплазии (прелейкемический синдром), препарат из этой же серии 5-aza-2'-deoxycytidine проходит стадию III клинических испытаний, а препараты epigallocatechin-3-gallate antisense oligomers фазу I. Исследуется терапевтическая эффективность в клинике препаратов, ингибирующих деацетилирование гистонов, таких как phenylbutyric acid, suberoylanilide, depsipeptide and valproic acid [10, 53]. Уже первые клинические исследования предполагают большую эффективность в действии на опухолевые клетки совместного использования ингибиторов ДНК метилтрансферазы и гистоновой деацетилазы [28].

Одной из важнейших внутриклеточных структур, имеющих отношение к нормальному функционированию клетки, являются теломеры. Последние представляют собой ДНК-белковый комплекс, располагающийся в конце каждой хромосомы, которые сохраняют интегративность и стабильность генома за счет предотвращения слияния концов хромосом друг с другом. Защита теломеры зависит от нескольких факторов, включающих точный состав белков, ассоциированных с теломерой, уровень активности теломеразы и длины самой теломеры. Для клеток с достаточной длиной теломер не требуется активная теломераза, но отсутствие теломеразной активности в клетках с критически короткими теломерами обуславливает слияние хромосом, репликативное старение и апоптоз. В принципе, высокая активность теломеразы обуславливает стабильность генома и высокую пролиферативную активность клетки, а низкая активность фермента может быть причиной хромосомной аномальности, нестабильности генома, остановки пролиферации, апоптоза. Естественно, последнее не только может лежать в основе той или иной патологии, не только играть роль зеркала патологии, она (теломераза) должна быть мишенью терапевтического воздействия, что и отмечается в последние годы.

Длина теломер варьирует не только среди различных типов клеток, но и также среди от-

дельных хромосом. Истощение теломеры, поэтому, влияет на функции генов, расположенных в отдельных хромосомах, задолго до достижения критических значений по средней длине теломер и повреждения репликативной способности клетки.

Принято считать, что опухолевые клетки характеризуются геномной нестабильностью, где потеря в размерах теломер вносит существенный вклад, обуславливая слияние близлежащих хромосом и пролонгированные циклы перемычек нарушенных слияний (prolonged breakage/fusion/bridge) с последующей экстенсивной амплификацией ДНК и большими терминальными делециями. Короткие теломеры были найдены в клетках рака мочевого пузыря, шеи, прямой кишки, пищевода, простаты. В то же время, клетки тех же опухолей могут характеризоваться достаточно высокой активностью теломеразы, что, очевидно, одной из главных причин продолжительных сроков жизни опухолевых клеток [3, 42, 49] (5.0 kb 8.0 kb) [19].

Данные свидетельствуют о тесной связи уменьшения длины теломер в лейкоцитах с наличием сердечно-сосудистых заболеваний и увеличением кардиоваскулярной смертности [31]. Было показано, что при атеросклерозе в гладкомышечных клетках сосудистой стенки отмечается значительное уменьшение длины теломер и снижение активности теломеразы по сравнению с данными даже в клетках из непораженных участков того пациента. Одной из главных причин этих изменений, по-видимому, является негативное влияние реактивных кислородных субстанций на активность теломеразы в клетках, помимо их повреждающих ДНК эффектов [30].

Длина теломер была уменьшена у больных с атеросклерозом коронарных сосудов [43]. У больных гипертонией уменьшение длины теломер в лейкоцитах крови предшествует развитию атеросклероза каротидных сосудов, т. е., первый процесс может выступать в роли предиктора второго. Более того, оказалось, что длина теломер у больных гипертонией с наличием бляшек в сосудах сердца была ниже, чем у больных без бляшек [5].

Укорочение длины теломер отмечается также и при аутоиммунных заболеваниях. У больных РА уменьшение длины теломер было обнаружено в Т-лимфоцитах (CD4, CD8, CD45RA, CD45RO), в моноцитах и гранулоцитах; у больных СКВ — в лимфоцитах [1, 17, 24, 50]. Что ка-

сается лимфоцитов, то найденные изменения в длине теломер при аутоиммунных заболеваниях могут быть отнесены к результатам проявления гомеостатической пролиферации, отражающую процессы повышенной пролиферативной активности Т-лимфоцитов при данной патологии. Не исключено, что уменьшение длины теломер в лимфоцитах данной группы больных является результатом не только проявления гомеостатической пролиферации, но и результатом нарушений в клетках предшественниках, так как данное изменение наблюдалось уже в CD34<sup>+</sup> стволовых кроветворных клеток из периферической крови [7]. Тогда следует думать, что при РА, например, имеются какие-либо генетические или эпигенетические нарушения механизмов, влияющих на скорость снижения длины теломер, либо стволовые клеточные элементы испытывают на себе длительно действующий сигнал, обуславливающий стимуляцию пролиферативной активности клеток, что, в конце концов, и приводит к снижению активности, к уменьшению размеров теломер. Интересно, что некоторыми авторами обнаружено повышение активности теломераз в лимфоцитах крови у больных РА и СКВ. Если это так, то здесь можно говорить о сближении «молекулярного» патогенеза РА и определенных опухолей, где также отмечалось уменьшение длины теломер на фоне повышенной активности теломераз [20].

Повышенный ангиогенез при РА и ряде опухолей может указывать, с одной стороны, на общие патогенетические механизмы этих патологий за счет, возможно, гипометилирования одних и тех же генов, а с другой стороны, на возможность применения в обоих случаях в качестве терапии препаратов типа ангиостатинов, ингибирующих активность ангиогенеза, клинические испытания уже проводятся [25].

В принципе, вообще, можно думать, что в случае наличия одних и тех же клинико-лабораторных симптомов при разных заболеваниях, учитывая роль нарушений в эпигеноме в реализации этих нарушений, именно сходные гены, по-видимому, подвержены процессам или гипер- или гипо-, или деметилирования. Несомненно это относится к дислипидемии, которая регистрируется как при атеросклерозе, естественно, так и при РА и, по крайней мере, при отдельных опухолях. Что касается атеросклероза и РА, то здесь, при обеих патологиях, вообще можно поставить вопрос о ведущей роли в патогенезе дислипидемии, с повышением уровня

провоспалительных ЛПНП и снижением уровня противовоспалительных ЛПВП. Существуют данные о повышенных уровнях холестерина, ЛПНП и триглицеридов задолго до развития основного заболевания РА, у больных, у которых в целом в процессе развития заболевания значительно раньше проявляются клинические симптомы атеросклероза и его осложнений в виде инфаркта миокарда и инсульта по сравнению с контрольной популяцией [38].

Одним из методов снижения активности теломеразы может быть индукция выработки антител в организме пациента с помощью введения теломеразных пептидов. На больных раком простаты и в эксперименте на мышах была показана возможность получения цитотоксических лимфоцитов против опухолевых клеток при определенном режиме введения теломеразной вакцины [32].

Можно утверждать, что эпигеном находится под жестким регуляторным прессингом со стороны окружающей среды. Стресс, курение, радиационная и химическая обстановка несомненно оказывают влияние на выраженность и направленность эпигеномных нарушений, выражающихся проявлением тех или иных заболеваний. Не последнее место занимает диета и, в частности, содержание в продуктах питания метионина и фолатов с их выраженным влиянием на процессы метилирования ДНК. Снижение содержания в пище метионина в одном случае на мышах обуславливает изменение окраски за счет изменения метилирования гена *agouti* [56], в другом случае на крысах развитие рака печени через гипометилирование ДНК [58].

Исходя из общих представлений, что раковая клетка многих и многих опухолей характеризуется уменьшенным размером теломер и большей активностью теломеразы, складывается представление о теломеразе как о важнейшей мишени в противоопухолевой терапии. Очевидно, проопухолевая активность теломеразы базируется не только на ее способности увеличивать длину теломер, но она может быть связана с другими механизмами контроля за ростом и выживанием клеток, в первую очередь опухолевых. Еще и поэтому теломераза должна быть одной из важнейших мишеней противоопухолевой терапии, где следует использовать разные антителимеразные стратегии, такие как: анти-сенсорная стратегия, использование ингибиторов теломеразы и агентов, взаимодействующих с G-квадруплексом, таких как ретиноиды,

мишенью которых является экспрессия hTERT [39]. Уже получены данные об ингибиторе теломеразы GRN163L, который в экспериментах на животных подавляет пролиферацию клеток рака груди и легких в условиях *in vitro* и значительно снижает инвазивность первых и метастазирование вторых в условиях *in vivo* [8, 14]. Более того, уже разрабатываются подходы к комплексному воздействию на уровень активности теломеразы, используя как прямой ингибитор теломеразы MST-312 (химическое производное компонента зеленого чая), так и ингибитор фермента танкиразы (tankyrase) 3-аминобензамид. Танкираза является представителем семейства PARP, через взаимодействие с TRF1 (фактор теломерного повтора 1) обуславливает большую доступность теломеры для теломеразы. Оказалось, что совместное использование этих двух ингибиторов при меньших дозах оказывает подавляющий пролиферацию эффект более выраженный, чем большие дозы одного ингибитора теломеразы [47].

Интересно, что в роли ингибитора активности теломеразы с последующим противоопухолевым эффектом могут выступать катехины зеленого чая [35]. Активность теломеразы можно подавить с помощью индукции иммунного ответа против фермента. Показана возможность лизиса клеток меланомы и тимомы и ингибция роста трех неродственных опухолей у мышей с помощью цитотоксических Т-лимфоцитов, которых получали после иммунизации мышей сингенными дендритными клетками, трансфицированными TERT РНК (полипептидный компонент теломеразы TERT) [36]. Более того, был получен положительный противоопухолевый эффект при иммунизации пациентов вакциной из коротких и гладкомышечных пептидов hTERT каталитической субъединицы теломеразной обратной транскриптазы [6].

Учитывая литературные данные о повышенной пролиферативной активности синовиальных фибробластов при РА клеток в стенке сосудов при атеросклерозе и, возможно, связанное с этим повышение активности теломеразы, следует, по-видимому, обратить внимание на возможное использование на каких-то этапах развития данных патологий тех терапевтических воздействий, которые направлены на снижение активности фермента в данных клеточных элементах, патология которых порой приравнивается к опухолевой трансформации.

За последние годы много сделано для решения проблемы терапии основных заболеваний современного человека. Сделано грамотно, с учетом самых последних, фундаментальных достижений в области изучения механизмов развития данных заболеваний (рак, атеросклероз, аутоиммунные и аллергические заболевания). Все это так. Однако, как правило, может быть только за редчайшим исключением, терапия направлена на эффекторные механизмы развития патологии, будь то отдельные клеточные популяции, различные цитокины и факторы роста клеток, разные внутриклеточные факторы, типа факторов транскрипции и т.д. Огромным достижением современной терапии можно считать мощнейшее внедрение в терапию моноклональных антител различной эффекторной направленности. Несомненно, перспективным следует считать использование в терапии антисенсов, аптомеров, трансфекцию в клетки генов. И все же, здесь не затрагиваются глубинные, фундаментальные, начальные механизмы развития того или иного патологического процесса, которые в дальнейшем приведут к нарушению нормального функционирования отдельно взятой клетки, отдельных субпопуляции клеток, клеточных популяций, к нарушению функционирования какого-либо органа или органов и, наконец, к развитию того или иного заболевания. Сейчас, по-видимому, опираясь на последние данные, можно говорить о единстве, тождественности всех этих молекулярно-биохимических механизмов, лежащих в основе формирования всех выше обозначенных патологических состояний. Данные механизмы включают в себя процессы модификации структуры хроматина с его факторами, влияющими на экспрессию генов, модификация гистонов путем их метилирования, ацетилирования и т.д., метилирование ДНК, активность некодирующих miРНК и, наконец, механизмы поддержания или неподдержания длины теломер. Естественно, что нарушение этих тождественных молекулярно-биохимических механизмов будет являться обоснованием применения тождественных методов их коррекции при всех этих патологиях, весьма далеких друг от друга по клиническим проявлениям заболеваний. Следовательно, базовой терапией онкологических и аутоиммунных заболеваний, терапии атеросклероза с его сердечно-сосудистыми осложнениями должны стать одни и те же лекарственные препараты, направленные на такие процессы, как ингибция метилирования ДНК,



ингибция деацетилирования гистонов и т.д. Несомненно, что применение данного рода лекарственных препаратов не должно исключать всех других, направленных на изменение активности отдельных молекул, клеток, клеточных популяций.

Более того, пожалуй, самой основополагающей проблемой применения методов, скажем, эпигенетической терапии будет проблема избирательной терапии отдельных, частных генов, именно по активности или неактивности которых, в первую очередь, и отличаются по клиническим проявлениям между собой рак, атеросклероз, аутоиммунные заболевания. Решение этой проблемы, со всей очевидностью, внесет неоценимый вклад в сохранение здоровья отдельных личностей и человечества в целом.

## Список литературы

1. Борисов В.И., Кожевников В.С., Сеников В.В., Сизиков А.Э., Коненкова Л.П., Герцог О.А., Козлов В.А. Укорочение длины теломер моноцитов при ревматоидном артрите // Медицинская иммунология. — 2006. — Т. 1. — С. 87-90.
2. Патрушев Л.И. Экспрессия генов. — Москва: Наука, 2000.
3. Bailey S.M., Murnane J.P. Telomeres, chromosome instability and cancer // Nucleic Acids Res. — 2006. — Vol. 34, N 8. — P. 2408-2417.
4. Ballestar E., Esteller M., Richardson B.C. The epigenetic face of systemic lupus erythematosus // J. Immunol. — 2006. — Vol. 176, N 12. — P. 7143-7147.
5. Benetos A., Gardner J.P., Zureik M., Labat C., Xiaobin L., Adamopoulos C., Temmar M., Bean K.E., Thomas F., Avitev A. Short telomeres are associated with increased carotid atherosclerosis in hypertensive subjects // Hypertension. — 2004. — Vol. 43. — P. 182-185.
6. Carpenter E.L., Vonderheide R.H. Telomerase-based immunotherapy of cancer // Expert Opin Biol Ther. — 2006. — Vol. 6. — P. 1031-1039.
7. Colmegna I., Diaz-Borjon A., Fujii H., Schaefer L., Golonzy J.J., Weyand C.M. Defective proliferative capacity and accelerated telomeric loss of hematopoietic progenitor cells in rheumatoid arthritis // Arthritis Rheum. — 2008. — Vol. 58, N 4. — P. 990-1000.
8. Dikmen Z.G., Gellert G.C., Jackson, Gryaznov S., Tressler R., Dogan P., Wright W.E., Shay J.W. *In vivo* inhibition of lung cancer by GRN163L: a novel human telomerase inhibitor // Cancer Res. — 2005. — Vol. 65, N 17. — P. 7866-7873.
9. Dong C., Yoon W., Goldschmidt-Clermont P.J. DNA methylation and atherosclerosis // J. Nutr. — 2002. — Vol. 132(8 suppl). — P. 2406S-2409S.
10. Egger G., Liang G., Aparicio A., Jones P.A. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetics therapy // Nature. — 2004. — Vol. 429, N 6990. — P. 457-463.
11. Feinberg A.P. Epigenetics at the epicenter of modern medicine // JAMA. — 2008. — Vol. 299, N 11. — P. 1345-1350.
12. Feltus F.A., Lee E.K., Costello J.F., Plass C., Vertino P.M. Predicting aberrant CpG island methylation // Proc. Natl. Acad. Sci. — 2003. — Vol. 100, N 21. — P. 12253-12258.
13. Fu L.H., Cong B., Zhen Y.F., Li S.J., Ma C.L., Ni Z.Y., Zhang G.Z., Zuo M., Yao Y.X. Methylation status of the IL-10 gene promoter in the peripheral blood mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients // Yi Chuan. — 2007. — Vol. 29, N 11. — P. 1357-1361.
14. Gellert G.C., Dikmen Z.G., Wright W.E., Gryaznov S., Shay J.W. Effects of novel telomerase inhibitor, GRN163L, in human breast cancer // Breast Cancer Res and Treatment. — 2006. — Vol. 96, N 1. — P. 73-81.
15. Hiltunen M.P., Hakkinen T.P., Rutanen J., Hedman M., Makinen K., Turunen A.M., Aalto-Setälä K., Ylä-Herttuala S. DNA hypomethylation and methyltransferase expression in atherosclerotic lesions // Vascular Medicine. — 2002. — Vol. 7, N 1. — P. 1-11.
16. Hiltunen M.O., Ylä-Herttuala S. DNA methylation, smooth muscle cells, and atherogenesis // Arterioscler Thromb. Vasc. Biol. — 2003. — Vol. 23, N 10. — P. 1750-1753.
17. Honda M., Mengesha E., Albano S., Nichols W.S., Wallace D.J., Metzger A., Klinenberg J.R., Linker-Israeli M. Telomere shortening and decreased replicative potential, contrasted by continued proliferation of telomerase-positive CD8<sup>+</sup>CD28(lo) T cells in patients with systemic lupus erythematosus // Clin. Immunol. — 2001. — Vol. 99, N 2. — P. 211-221.
18. Kanai Y. Alterations of DNA methylation and clinicopathological diversity of human cancer // Pathol. International. — 2008. — Vol. 58. — P. 544-558.

- 19.Kiyozuka Y., Yamamoto D., Yang J., Uemura Y., Senzaki H., Adachi S., Tsubura A. Correlation of chemosensitivity to anticancer drugs and telomere length, telomerase activity and telomerase RNA expression in human ovarian cancer cells // *Anticancer Res.* – 2000. – Vol. 20, N 1A. – P. 203-212.
- 20.Klapper W., Moosig F., Sotnikova A., Qian W., Schroder J.O., Parwaresch R. Telomerase activity in B and T lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus // *Ann. Rheum.* – 2004. – Vol. 63. – P. 1681-1683.
- 21.Kwon N.H., Kim J.S., Lee J.Y., Oh M.J., Choi D.C. DNA methylation and the expression of IL-4 and IFN gamma promoter genes in patients with bronchial asthma // *J. Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 28, N 2. – P. 139-146.
- 22.Lee W.J., Kim H.J. Inhibition of DNA methylation is involved in transdifferentiation of myoblasts into muscle cells // *Mol. Cells.* – 2007. – Vol. 24, N 3. – P. 441-444.
- 23.Li E. The mojo of methylation // *Nat. Genet.* – 1999. – Vol. 23, N 1. – P. 5-6.
- 24.Lin J., Xie J., Qian W.B. Telomerase activity and telomere length in CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD19<sup>+</sup> lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus // *Zhejiag Da Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2005. – Vol. 34, N 6. – P. 534-537.
- 25.Lippi G., M. Franchini, G.L. Salavagno, G.C. Guidi Lipoprotein[a] and cancer: anti-neoplastic effect besides its cardiovascular potency // *Cancer Treatment Rev.* – 2007. – Vol. 33. – P. 427-436.
- 26.Lund G., Andersson L., Lauria M., Lindholm M., Fraga M.F., Villar-Garea A., Ballestar E., Esteller M., Zaina S. DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E // *J. Biol. Chemistry.* – 2004. – Vol. 279, N 28. – P. 29147-29154.
- 27.Lund G., Zaina S. Epigenetics, transgenerational effects and risk factors for atherosclerosis // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2009. Vol. 20, N 2. – P. 150-151.
- 28.Lyko F., Brown R. DNA methyltransferase inhibitors and the development of epigenetic cancer therapies // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2005. – Vol. 97, N 20. – P. 1498-1506.
- 29.Marin M.L., Gordon R.E., Veith F.J., Tulchin N., Panetta T.F. Distribution of the c-myc oncoprotein in healthy and atherosclerotic human carotid arteries // *Vasc. Surg.* – 1993. – Vol. 18, N 2. – P. 170-176.
- 30.Mattheews C., Gorenne I., Scott S., Figg N., Kirkpatrick P., Ritchie A., Goddard M., Bennett M. Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 99, N 2. – P. 156-164.
- 31.Minamoto T., Rjmuro I. Role of telomere in endothelial dysfunction in atherosclerosis // *Curr Opin Lipidol.* – 2002. – Vol. 13, N 5. – P. 537-543.
- 32.Minev B., Hipp J., Firat H., Schmidt J.D., Langlade-Demoyen P., Zanetti M. Cytotoxic T cell immunity against telomerase reverse transcriptase in humans // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2000. – April 25. – Vol. 97(9). – P. 4796-4801.
- 33.Miyamoto K., T.Ushijima Diagnostoc and therapeutic applications of epigenetics // *Jpn. J. Oncol.* – 2005. – Vol. 35, N 6. – P. 293-301.
- 34.Mund C., Brueckner B., Lyko F. Reactivation of epigenetically silenced genes by DNA methyltransferase inhibitors: basic concepts and clinical application // *Epigenetics.* – 2006. – Vol. 1, N 1. – P. 7-13.
- 35.Naasani I., Seimiya H., Tsuruo T. Telomerase inhibition, telomere shortening, and senescence of cancer cells by tea catechins // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1998. – Vol. 249. – P. 391-396.
- 36.Nair S.K., Heiser A., Boczkowski D., Majumdar A., Naoe M., Lebkowski J.S., Vieweg J., Gilboa E. Induction of cytotoxic T cell responses and tumor immunity against unrelated tumors using telomerase reverse transcriptase RNA transfected dendritic cells // *Nature Medicine.* – 2000. – Vol. 6. – P. 1011-1017.
- 37.Nakamura T., Sekigawa I., Ogasawara H., Mitsuishi K., Hira K., Ikeda S., Ogawa H. Expression of DNMT-1 in patients with atopic dermatitis // *Arch. Dermatol. Res.* – 2006. – Vol. 298, N 5. – P. 253-256.
- 38.Nurmohamed M.T., Dijkmans B.A.C. Dyslipidaemia, statins and rheumatoid arthritis // *Ann Rheum Dis.* – 2009. – Vol. 68, N 4. – P. 453-455.
- 39.Pendino F., Tarkanyi I., Dudognon C., Hillion J., Lanotte M., Aradi J., Segal-Bendirdijan E. Telomeres and telomerase: pharmacological targets for new anticancer strategies? // *Curr. Cancer Drug Targets.* – 2006. – Vol. 6, N 2. – P. 147-180.
- 40.Post W.S., Goldschmidt-Clermont P.J., Wihide C.C., Heldman A.W., Sussman M.S.,

- Onyang P., Milliken E.E., Issa J.P. Methylation of the estrogen receptor gene is associated with a aging and atherosclerosis in the cardiovascular system // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – Vol. 43, N 4. – P. 985-991.
41. Rauch T., Wang Z., Zhang X., Zhong X., Wu X., Lau S.K., Kernistine K.H., Riggs A.D., Pfeifer G.P. Homeobox gene methylation in lung cancer studied by genome-wide analysis with a microarray-based methylated CgG island recovery assay // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 104, N 13. – P. 5527-5532.
42. Raynaud C.M., Sabatier L., Philipot O., Olaussen K.A., Soria J.-C. Telomere length, telomeric proteins and genomic instability during the multistep carcinogenic process // *Critical Rev in Oncol/Hematol.* – 2008. – Vol. 66, N 2. – P. 99-117.
43. Samani N.J., Boulby R., Thompson J.R., Goodall A.H. Telomere shortening in atherosclerosis // *Lancet.* – 2002. – Vol. 358, N 9280. – P. 472-473.
44. Sano H., Compton L.J., Shiomi N., Steinberg A.D., Jackson R.A., Sasaki T. Low expression of human histocompatibility leukocyte antigen-DR is associated with hypermethylation of human histocompatibility leukocyte antigen-DR alpha gene regions in B cells from patients with systemic lupus erythematosus // *J. Clin. Invest.* – 1985. – Vol. 76, N 4. – P. 1314-1322.
45. Scarano M.I., Strazzullo M., Matarazzo M.R., D'Esposito M. DNA methylation 40 years later: Its role in human health and disease // *J. Cell. Physiol.* – 2005. – Vol. 204, N 1. – P. 21-35.
46. Sekigawa I., Kawasaki M., Ogasawara H., Kaneda K., Kaneka H., Takasaki Y., Ogawa H. DNA methylation: its contribution to systemic lupus erythematosus // *Clin. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 6, N 3. – P. 99-100.
47. Shay J.W., Wright W.E. Mechanism-based combination telomerase inhibition therapy // *Cancer Res.* – 2005. – Vol. 7, N 1. – P. 1-2.
48. Shen L., Toyoto M., Kondo Y., Lin E., Zhang L., Guo Y., Hernandez N.S., Chen X., Ahmed S., Konishi K., Hamilton S.R., Issa J.P. Integrated genetics and epigenetics analysis identifies three different subclasses of colon cancer // *Proc Soc Natl. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 104, N 47. – P. 18654-18659.
49. Shin J.-S., Hong A., Solomon M.J., Lee C.S. The role of telomere and telomerase in the pathology of human cancer and aging // *Pathology.* – 2006. – Vol. 38, N 2. – P. 103-113.
50. Steer S.E., Williams F.M., Kato B., Gardner J.P., Norman P.J., Hall M.A., Kimura M., Vaughan R., Aviv A., Spector T.D. Reduced telomere length in rheumatoid arthritis is independent of disease activity and duration // *Ann. Rheum.* – 2007. – Vol. 66, N 4. – P. 476-480.
51. Sugino Y., Misawa A., Inone J., Kitagawa M., Hosoi H., Sugimoto T., Imoto I., Inazawa J. Epigenetic silencing of prostaglandin E receptor 2 (PTGER2) is associated with progression of neuroblastomas // *Oncogene.* – 2007. – Vol. 26, N 53. – P. 7401-7413.
52. Takami N., Osawa K., Miura Y., Komai K., Taniguchi M., Shiraishi M., Sato K., Iguchi T., Shiozawa K., Hashiramoto A., Shiozawa S. Hypermethylated promoter region of DR3, the death receptor 3 gene, in rheumatoid synovial cells // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol. 54, N 3. – P. 779-787.
53. Van Vliet J., Oates N.A., Whitelaw E. Epigenetic mechanisms in the context of complex diseases // *Cell. Mol. Life.* – 2007. – Vol. 64, N 12. – P. 1531-1538.
54. Vivekanandan P., Thomas D., Torbenson M. Hepatitis B viral DNA is methylated in liver tissues // *J. Viral Hepat.* – 2008. – Vol. 15, N 2. – P. 103-107.
55. Waggoner D. Mechanisms of disease: epigenesis // *Semin Pediatr Neural.* – 2007. – Vol. 14, N 1. – P. 7-14.
56. Waterland R.A., Jirtle R.L. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation // *Mol. Cell Biol.* – 2003. – Vol. 23, N 15. – P. 5293-5300.
57. Wen Z.K., Xu W., Xu L., Cao Q.H., Wang Y., Chu Y.W., Xiong S.D. DNA hypomethylation is crucial for apoptotic DNA to induce systemic lupus erythematosus-like autoimmune disease in SLE-non-susceptible mice // *Rheumatology.* – 2007. – Vol. 46, N 12. – P. 1796-1803.
58. Wilson M.J., Shivapukar N., Poirier L.A. Hypomethylation of hepatic nuclear DNA in rats fed with a carcinogenic methyl-deficient diet // *Biochem J.* – 1984. – Vol. 218, N 3. – P. 987-990.
59. Ying A.K., Hassanain H.H., Ross C.M., Smiraglia D.J., Issa J.J., Michler R.E., Caligiuri M., Plass C., Goldschmidt-Clermont P.J. Methylation of the estrogen receptor-alpha gene promoter is selectively increased in proliferating human

aortic smooth muscle cells // Cardiovasc. Res. — 2000. — Vol. 46, N 1. — P. 173-179.

60. Yoder J.A., Walsh C.P., Bertor T.H. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic

parasites // Trends Genet. — 1997. — Vol. 13, N 8. — P. 335-340.

*поступила в редакцию — 08.02.2010*

*принята к печати — 13.02.2010*