

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ TERRA ИМЕЮТ БОЛЬШОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ МЕХАНИЗМОВ СТАРЕНИЯ

Обзор

© 2020 Дж. Либертини^{1*}, Г. Корби², Н. Феррара³

¹ *Independent researcher, member of the Italian Society for Evolutionary Biology, 14100 Asti, Italy; E-mail: giacinto.libertini@yahoo.com*

² *Department of Medicine and Health Sciences, University of Molise, and Italian Society of Gerontology and Geriatrics (SIGG), 86100 Campobasso, Italy*

³ *Department of Translational Medical Sciences, Federico II University of Naples, 80131 Naples, Italy*

Поступила в редакцию 11.05.2020

После доработки 18.07.2020

Принята к публикации 31.07.2020

Любая теория, которая предполагает адаптивное значение процесса старения организма, в неявном виде постулирует существование специфических механизмов, генетически предопределенных и модулируемых, которые вызывают прогрессирующее ухудшение физического состояния организма. Согласно теории субтеломеры–теломеры, каждая теломера покрыта капюшоном, образующимся в первой клетке организма и имеющим размеры, которые затем сохраняются при каждой последующей дупликации клетки. Укорочение теломеры, которое в количественном плане зависит от типа клетки и регуляции активности теломеразы, вынуждает капюшон скользить по субтеломере, подавляя её активность за счет своего положения на теломере. В настоящее время теория постулирует существование субтеломерных регуляторных последовательностей, чья поступательная репрессия на уровне транскрипции капюшоном должна приводить к клеточным изменениям, которые, вероятно, будут определять проявления старения. В то же время последовательности с характеристиками этих гипотетических последовательностей уже описаны и задокументированы. Это РНК, содержащие [суб]теломерные повторы (TERRA, TElomeric Repeat [sub]TElomeric Repeat-containing RNA). Репрессия последовательности TERRA вызывает нарастающее: 1) снижение или повышение экспрессии многих других регуляторных последовательностей; и 2) повышение вероятности активации программы клеточного старения (блокада возможностей для репликации и высокая степень изменения клеточных функций). Если же программа клеточного старения не приведена в действие, и репрессия клеток ограничена, тогда наблюдается частичное изменение клеточных функций, и активация теломеразы может легко обратить этот процесс. Расположение чрезвычайно важных последовательностей в участках хромосомы, которые наиболее уязвимы для репрессии капюшоном теломеры, с позиции эволюции не оправдано, если только не рассматривать старение как адаптацию: эта локализация обязательно должна носить адаптивный характер со специфической функцией определения старения клетки и, следовательно, целого организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: парадигма адаптивного старения, старение, механизмы старения, субтеломера, теломера, последовательности TERRA.

DOI: 10.31857/S0320972520120040

ВВЕДЕНИЕ

Существуют две совершенно разные парадигмы, объясняющие процесс старения, которые здесь точно определены как «рост смертности в дикой природе по мере увеличения хронологического возраста популяций» [1].

Согласно первой парадигме («парадигма непрограммированного или неадаптивного старения»), старение – это прогрессирующий общий результат многих дегенеративных явлений,

которым естественный отбор противостоять не может [2].

Многие теории поддерживают первую парадигму. Основным различием между ними является предполагаемый единственный или главный фактор, ответственный за происхождение старения. Большая группа этих теорий, которые можно определить как «гипотезы накопления повреждений», поддерживает гипотезу о том, что причиной старения является очень разнородный набор факторов, который ограничивается только воображением тех, кто выдвигает такие предположения. Например, это «износ» клеток

* Адресат для корреспонденции.

и/или целого организма, внутренние изменения в определенных тканях (нервная, эндокринная, сосудистая, соединительная и т.д.), механохимическое разрушение внутриклеточных коллоидов, токсичные продукты выделения кишечных бактерий, накопление метаболитов или «метаплазмы», влияние космических лучей, воздействие гравитации, накопление тяжелой воды, эффект аристотелевской «энтелехии», достижения критического соотношения объема и поверхности, исчерпание ресурсов, которое связывает старение и воспроизводство (см. [3], стр. 10).

Многие теории из этой группы были выдвинуты еще в XIX в. или в начале XX в., но популярность их основных положений сохраняется в связи с продолжающимися повторными предложениями аналогичных теорий в последующие годы и все еще в настоящее время в обновленных формах, в которых причину старения приписывают таким факторам, как: нарастающее и неумолимое увеличение энтропии [4]; накопление химических повреждений вследствие химических повреждений при ошибках транскрипции ДНК [5]; вредные последствия процесса окисления [6]; окислительное влияние свободных радикалов на весь организм [7] / на митохондрии [8]/на ДНК [5]; воспалительные явления («inflamm-aging») и возрастные изменения иммунной системы [9] и др.

Другая группа теорий, относящихся к первой парадигме, предполагала происхождение старения как континуум старения и морфогенеза или, напротив, прекращение соматического роста (см. [3], стр. 10). Несмотря на большое разнообразие, для всех этих теорий характерно то, что в предлагаемых механизмах игнорируется естественный отбор. Следовательно, естественный отбор неявно исключается как фактор, способный противостоять предполагаемым причинам старения. Другая группа теорий, также принадлежащих к парадигме неадаптивного старения, прямо декларирует, что рассматривает механизмы естественного отбора. Согласно этим теориям, естественный отбор неспособен полностью противостоять старению, потому что он: 1) неэффективен против мутаций, возникающих на поздних стадиях жизни (*гипотеза накопления мутаций*); 2) действует слабо в отношении генов с плейотропными эффектами, которые благоприятны на ранних стадиях жизни и впоследствии становятся вредны (*гипотеза антагонистической плейотропии*); или 3) ограничен конфликтующими эволюционными потребностями, например, разделением ограниченных ресурсов между воспроизводством и необходимостью обновления/поддержания организма (*гипотеза одноразовой сомы*) [10].

В рамках самых разнообразных теорий парадигмы неадаптивного старения есть одна идея, которая их всех объединяет. Старение здесь всегда рассматривается как негативное явление и поэтому не имеет каких-либо характеристик, которым мог бы благоприятствовать естественный отбор или другие факторы. Следовательно, с явным учетом естественного отбора или без него, существование феномена старения связано с недостаточностью факторов (естественный отбор или другие факторы), которые могли бы противостоять ему, в то время как полностью игнорируется возможность того, что старению что-то так или иначе благоприятствует.

Все это можно резюмировать одной фразой, что в случае первой парадигмы, старение является большим провалом процесса эволюции!

В случае второй парадигмы («парадигма программированного или адаптивного старения»), старение (несмотря на то, что оно определено как вредное для стареющего индивида) является преимуществом при определенных условиях с точки зрения супра-индивидуального отбора. Это позволяет нам предположить, что старение является результатом процесса адаптации, т.е. это генетически предопределенное и модулируемое явление со своей специфической физиологией, филогенезом и патологией [11, 12].

Идея старения как явления, которому благоприятствует естественный отбор, была понята на интуитивном уровне, но без подкрепления соответствующими исследованиями: Alfred Wallace в работе [13, том I, 1889] и затем August Weissmann [13, том I, 1891]. В 1961 г. ботаник Aldo Carl Leopold впервые предположил, помимо других вещей, что: «...у растений старение является катализатором эволюционной приспособляемости» [14]; «...мы можем с уверенностью предположить, что существуют некие внутренние биологические механизмы, которые вызывают снижение жизнеспособности и повышение уязвимости таких популяций» [14], т.е. идеи о том, что, по крайней мере, у растений старение: 1) в некоторой степени выгодно и 2) оно обязательно определяется специфическими «внутренними биологическими механизмами».

В 1988 г. старение было предположено как адаптивный феномен, которому благоприятствовал естественный супра-индивидуальный отбор с точки зрения родственного отбора в особых экологических условиях (пространственно структурированные популяции и К-отбор) [1]. Спустя шестнадцать лет, в 2004 г. [15] и последующие годы [16, 17], аналогичные идеи были высказаны другими авторами, которые показав

ли, что старение может быть полезным для пространственно структурированных популяций (для точного и подробного изложения этих адаптивных теорий старения, чтобы избежать ненужных повторений, рекомендуется ознакомиться с указанными выше публикациями). Более того, было подчеркнуто, что старение, описываемое как явление, опасное для индивида до момента его смерти, в то же время является благоприятным с точки зрения супра-индивидуального отбора, ни в коем случае не является чем-то уникальным или редкой странностью. Напротив, с определением понятия феноптоза как «программированной гибели индивида» [18] и расширением определения этого понятия [19] было указано, что старение является одним из бесчисленных проявлений феноптоза [18, 19], хорошо известных в течение некоторого времени [20] и которые (среди прочего) формируют таблицы продолжительности жизни биологических видов [21].

Хотя тезис о неадаптивном характере старения по-прежнему является наиболее принятой и распространенной парадигмой [22–24], также имеются различные теоретические аргументы и веские доказательства в поддержку объяснения процесса старения как адаптации, направленные против противоположной интерпретации этого процесса [10, 25]. Однако целью настоящей работы не является повторение или углубление рассмотрения аргументов и доказательств против или в поддержку какой-либо из двух парадигм. Целью данной статьи является привлечь внимание к некоторым выводам, которые должны помочь сделать четкий и объективный выбор между этими двумя парадигмами.

Собственно говоря, фундаментальное различие между двумя парадигмами является прямым и логичным следствием их противоположных способов интерпретации феномена старения [11].

В случае неадаптивной парадигмы, поскольку старение не может иметь какое-либо физиологическое адаптивное значение, и оно объясняется в виде случайного кумулятивного результата дегенеративных явлений, то оно не может возникнуть под действием определенных механизмов, сформированных естественным отбором и генетически предопределенных и поддающихся регуляции. Поэтому возможное существование таких механизмов будет явно и неоправданно контрастировать с неадаптивной гипотезой и, следовательно, сделает её совершенно несостоятельной.

Напротив, в случае адаптивной теории существование определенных механизмов, вызывающих старение и сформировавшихся в ходе есте-

ственного отбора, генетически предопределенных и регулируемых, является необходимым и важным предсказанием. Кроме того, существование таких механизмов является неременным условием жизнеспособности такой теории.

Поэтому вполне очевидно, что критическое и решающее различие между двумя тезисами, основанное на эмпирических доказательствах, будет заключаться в существовании таких механизмов или же их отсутствии. Все это не исключает возможности появления новых доказательств в пользу других теорий, например, касательно плейотропных генов, предусмотренных теорией антагонистической плейтропии, для которой в настоящее время нет доказательств. Это могло быть объяснением вышеупомянутых механизмов, придающее новую силу теориям, которые не предполагают существование адаптивного значения процесса старения.

МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ, ВЫТЕКАЮЩИЕ ТЕОРИИ СУБТЕЛОМЕРЫ–ТЕЛОМЕРЫ

В рамках парадигмы программированного старения возможный механизм, который, по видимому, лучше других основывается на результатах научных исследований, сначала описал в 2004 г. Fossel [26]. Впоследствии этот механизм был более детально рассмотрен и четко определен как «теория субтеломеры–теломеры» [27]. В настоящей работе не рассматриваются возможные альтернативные интерпретации механизмов старения в контексте парадигмы адаптивного старения [28], потому что они (в меньшей мере) обоснованы выводами эмпирических наблюдений. Теория субтеломеры–теломеры подробно рассмотрена в других работах [11, 26, 27, 29, 30] и здесь представлено лишь резюме.

Hayflick и Moorhead (после многих лет, в течение которых считалось обратное) показали, что у нормальных соматических клеток есть определенный лимит на число дупликаций [31]. Что касается причин существования этого лимита (предел Хейфлика), то еще в 1971 г. Olovnikov обратил внимание на то, что фермент, способный вызывать дупликацию молекулы ДНК (ДНК-полимераза), не вызывает репликацию небольшого концевой участка этой молекулы. Эта неполная дупликация должна вызвать прогрессирующее укорочение концевой участка молекулы ДНК, «теломеры», и этим можно объяснить существование предела Хейфлика [32].

Двумя годами позже Olovnikov обнаружил, что неполная дупликация в некоторых случаях обязательно должна быть компенсирована

действием определенного фермента, чтобы объяснить неограниченную или большую способность к дупликации зародышевых и стволовых клеток соответственно [33]. Этот фермент (теломераза) был идентифицирован в 1985 г. [34], и было обнаружено, что его активность регулируется на генетическом уровне [35].

В то же самое время было показано, что теломера состоит из несколько раз повторяющейся конкретной последовательности [36], у человека этот мотив был определен как TTAGGG [37]. Аналогичные последовательности были также выявлены у многих других видов [38]. Установлено, что эта последовательность присутствует у каждого вида и строго сохраняется в процессе эволюции. Например, мотив TTAGGG есть у всех позвоночных и многих филогенетически отдаленных видов беспозвоночных, а немного отличающийся мотив (TTAGG) характерен для многих других видов (Telomerase Database, telomerase.asu.edu/sequences_telomere.html, accessed February 14, 2020).

Кажется правдоподобной простая гипотеза, основанная на этих данных. В отсутствие теломеразной активности при каждой дупликации происходит укорочение теломеры. Когда её длина достигает критической величины, дупликации прекращаются, и (как побочный эффект) происходит изменение клеточных функций. Кроме того, полная или частичная активность теломеразы обуславливает неограниченную или повышенную способность к дупликации зародышевых и стволовых клеток соответственно. Эта гипотеза, однако, противоречила тому факту, что синхронизированные клеточные культуры (т.е. клетки с равным количеством дупликаций) демонстрировали прогрессивное снижение способности к росту, начиная с первых дупликаций. Это означало, что даже для клеток с очень незначительно укороченными теломерами был стохастический переход из «циклирующего состояния» (возможна дупликация) в «нециклирующее состояние» (дупликация невозможна) [39, 40]. Чтобы разрешить это противоречие, Blackburn предложила модель, которая должна была объяснить экспериментальные результаты [41]. Согласно этой модели, теломера случайным образом колеблется между двумя состояниями: 1) «закрытая», когда она защищена особым нуклеопротеидным капюшоном (нет лучшего определения); 2) «незащищенная», когда этот капюшон не защищает теломеру. Кроме того, Blackburn предположила, что длина теломеры влияет на баланс между закрытым и незащищенным состояниями, т.е. чем более теломера укорочена, тем в большей степени она находится в незащищенном состоянии, что де-

лает её уязвимой к переходу в «нециклирующее состояние».

Другое явление, которое нуждается в объяснении, называется как «эффект положения теломер». Так, у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в вопросе укорочения теломер, репрессия нуклеотидной последовательности, расположенной в непосредственной близости от теломеры [42] (феномен, который впоследствии был выявлен у других видов [43]), была включена [44], и подтверждена её связь с укорочением теломер [45].

Кроме того, некоторые интересные явления, сходные с «эффектом положения теломеры», были обнаружены у дрожжей. У этих видов одноклеточных организмов теломераза всегда находится в полностью активном состоянии, и поэтому при каждой дупликации не происходит укорочения теломер [46]. У дрожжей материнская клетка делится на две немного отличающиеся друг от друга клетки: 1) первая клетка, определяемая как «материнская», в которой в непосредственной близости от теломеры выявляются внехромосомные рибосомальные кольцевые ДНК (ERCs, extrachromosomal ribosomal DNA circles); 2) вторая клетка, определяемая как «дочерняя» (или «почкующаяся») клетка, в которой эти кольцевые ДНК отсутствуют.

По мере продолжения дупликаций, в то время как дочерние клетки демонстрируют неограниченную дупликационную активность [47], в клетках материнской линии наблюдается непрекращающееся накопление ERCs [48], усиливающееся падение способности выдерживать стресс и рост уязвимости к апоптозу [49, 50]. Происходит ограничение числа максимально возможных дупликаций (25 дупликаций) [51]. Что касается упадка активности клеток материнской линии: несколько линий доказательств позволяют предположить, что накопление ERCs является одним из факторов, определяющих продолжительность жизни, «иными словами, большее число дупликаций», и видны усиливающиеся метаболические изменения пропорционально количеству произведенных дупликаций [52].

Кроме того, в определенных штаммах дрожжей с дефектной теломеразой (мутантные клетки *tlc1Δ*), в клетках как материнской, так и дочерней линий наблюдается укорочение теломер при каждой дупликации. Представители дочерней клеточной линии, несмотря на то, что у них, в отличие от клеток штамма дикого типа, не накапливаются внехромосомные кольцевые ДНК, транскриптом сходен с транскриптомом нормальных представителей материнской линии, подвергшимся тому же количеству дупликаций [52].

Это, по-видимому, указывает на то, что в то время как в клетках штаммов дикого типа ERCs репрессируют субтеломерную ДНК, в мутантных клетках *tlc1Δ* подавление субтеломерной ДНК вызвано скольжением гетерохроматинового капюшона теломеры в результате укорочения теломеры.

Fossel предложил свою интерпретацию этих явлений: «...гетерохроматиновый «капюшон»... покрывает теломеру и участки различной длины на субтеломерной хромосоме ... По мере укорочения теломеры капюшон соскальзывает с хромосомы (размер гетерохроматинового капюшона не меняется, он просто двигается вместе с укорачиваемым концевым участком) ... результат выражается в изменении картины транскрипции на отдельных участках хромосомы, непосредственно прилегающих к теломерному комплексу, что обычно выражается в сайленсинге транскрипции, хотя контроль без сомнения более сложный, чем просто влияние близости теломеры ... Эти молчащие гены могут, в свою очередь, модулировать другие более удаленные гены (или наборы генов). Есть некоторые прямые доказательства такой модуляции в субтеломерах...» [26].

Прогрессивное изменение клеточных функций в связи с укорочением теломеры, своего рода «эффект положения теломеры», при более пристальном рассмотрении того, что предложил Fossel, было определено, возможно, более точно по его последствиям как «постепенное старение клеток» [10].

В те же годы, когда Fossel выдвинул свою гипотезу, Blackburn описала переход в «нециклирующее» состояние [41] как определенную клеточную «программу», которая определяет условия, обозначаемые как «клеточное старение» [53], характеризующиеся блокировкой способности к дупликации и глубокими изменениями клеточных функций («драматические изменения структуры хроматина и уровня экспрессии генов») [53], а также «устойчивостью к апоптозу и часто обретением провоспалительного секреторного фенотипа, ассоциированного с разрушением тканей и клеточным старением (SASP, senescence-associated secretory phenotype)» [54].

У позвоночных во многих типах клеток наблюдается непрерывное обновление с четкими ритмами [55], благодаря достигнутому балансу между различными типами программированной гибели клеток, например, кератинизация и отслоение клеток эпидермиса и волос; отслоение клеток слизистой внутренних полостей тела; апоптоз и дупликация определенных типов стволовых клеток. Если у молодых индивидов баланс выглядит оптимальным, у старших субъ-

ектов замена утерянных клеток становится всё медленнее и неполной. Это снижение интенсивности процесса обновления клеток вместе с повышением количества клеток с измененными функциями вследствие старения клеток или постепенного клеточного старения определяет условия, обозначаемые как «атрофический синдром» [11], с такими признаками, как: «пониженная средняя способность клеток к дупликации и замедление процесса обновления клеток; уменьшенное снижение клеток (атрофия); замена отсутствующих определенных клеток неопределенными клетками; гипертрофия остающихся определенных клеток; измененные функции клеток с укороченными теломерами (постепенное старение клеток) или окончательно в нециклирующем состоянии (клеточное старение); изменения окружающей среды и клеток, зависящих от функциональности стареющих или отсутствующих клеток; уязвимость к раку в связи с нестабильностью, вызванной теломерой с нарушенной функцией...» [29].

В качестве возможного возражения против этого общего объяснения проявлений старения могло, по-видимому, служить неадекватное объяснение старения в случае тканей и органов, в которых основные клетки являются многолетними, т.е. когда не происходит обновления клеток. Это центральная нервная система, сетчатка, кортиева железа и хрусталик глаза. На такой вопрос есть ответ, который присутствует в вышеприведенном описании «атрофического синдрома». Он заключается в том, что старение переренальных клеток является следствием упадка соответствующих сателлитных или трофических клеток. Эта тема была ранее подробно обсуждена в других работах [11, 29, 56, 57], и для краткости она здесь повторно не рассматривается.

Что касается гипотезы Fossel о фиксированном размере «капюшона», защищающего теломеру («...гетерохроматиновый капюшон не меняется в размерах и просто двигается вместе с укорачиваемым концом...» [26], стр. 50), то это более точно описывается так: в первой клетке организма для каждой теломеры образуется капюшон, размер которого пропорционален длине теломеры. Далее размер каждого капюшона остается без изменений во время всех последующих дупликаций клетки. Как следствие фиксированного размера капюшона, явления репрессии субтеломеры не связаны с исходной длиной теломеры и соответствующего капюшона, а имеют отношение к укорочению теломеры и последующего скольжения капюшона относительно субтеломерного участка. Гипотеза фиксированной длины капюшона для каждой тело-

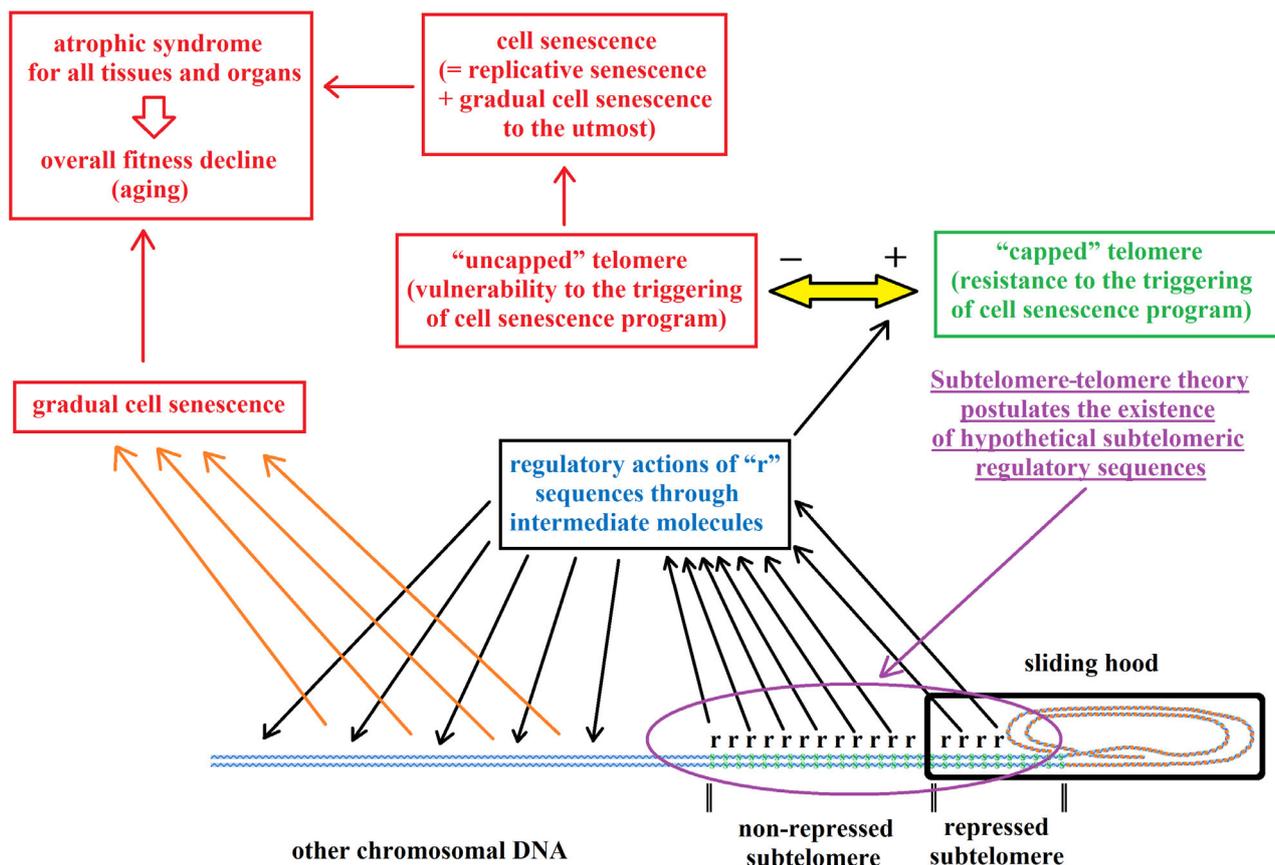


Рис. 1. Диаграмма теории субтеломеры–теломеры. Рисунок взят из [56], изменен и перерисован. Предполагается, что прогрессивная репрессия гипотетической последовательности «г» вызывает постепенное клеточное старение и повышает вероятность старения клеток. (С цветными вариантами рис. 1–4 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

меры кажется необходимой для объяснения многих явлений (<a>, и <v> уже обсуждались подробно в других работах [30]):

а) отсутствие корреляции между длиной теломеры и продолжительностью жизни при проведении сравнения видов [58];

б) аналогичное отсутствие корреляции при сравнении индивидов одного вида (например, 1) между животным-донором и клонированным животным [59]; и 2) между двумя линиями мышей с различной длиной теломер [26], стр. 60);

в) репрессия теломер в клетках дочерней линии у мутантных дрожжевых клеток *tlc1Δ* (см. выше);

г) принимая во внимание тот факт, что в каждой клетке много теломер (число теломер (n) эквивалентно числу молекул ДНК — две для каждой хромосомы — умноженное на два — число концов в молекуле ДНК — итак, в человеческой клетке $n = 23 \times 2 \times 2 = 92$), и что длина теломеры варьирует от хромосомы к хромосоме, а также от одного до другого конца одной и той же молекулы ДНК [60], фиксированный размер ка-

пюшона, пропорциональный исходной длине теломеры, позволит избежать различий в степени репрессии теломер и возможность того, что старение целой клетки может быть обусловлено длиной самой короткой теломеры;

д) когда теломераза восстанавливает длину теломеры, это является незаменимым для каждой теломеры точным маркером её предыдущей длины: капюшон, который, как предполагается, имеет фиксированный и пропорциональный начальной длине теломеры размер, может рассматриваться в качестве такого точного маркера.

Эти положения, которые кратко описывают теорию субтеломеры–теломеры, представлены на рис. 1. Основной момент, который необходимо выделить для последующей дискуссии, состоит в том, что согласно этой теории капюшон, который накрывает теломеру в результате её укорочения, соскальзывает на субтеломерную последовательность и ингибирует гипотетические последовательности (на рисунке обозначены как “г”), которые должны обладать общими

регуляторными действиями в отношении клеточных функций. В то время как существование этих постулированных регуляторных субтеломерных последовательностей необходимо для устойчивости этой теории, однако никаких прямых доказательств их существования предложено не было.

Следовательно, мы сталкиваемся со случаем, который часто встречается в научных исследованиях. На основе эмпирических данных строится теория, которая выдвигает гипотезы об явлениях, которые должны быть подтверждены или опровергнуты соответствующими исследованиями. Подтверждение того, что предполагалось, подтверждает и подкрепляет теорию, в то время как отсутствие подтверждения делает теорию недействительной или, по крайней мере, делает её неустойчивой в предлагаемой форме.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ TERRA

С учетом того, что протяженность субтеломерных участков не определена точно в цитируемых ниже работах, признаки большого значения этих участков молекул ДНК для функционирования клеток и данные, совместимые с возможным существованием гипотетических «г» последовательностей, были известны несколько лет, в частности: 1) у человека субтеломерные участки представляют собой мозаику из множества общих последовательностей (более 40 типов) с различными открытыми рамками считывания [61–63]; 2) субтеломеры демонстрируют «... необычную структуру: лоскуты из блоков, которые дублируются ...» [64], вместе с «... длинными массивами тандемно повторяющихся сателлитных последовательностей» [65]. Эти характеристики были обнаружены у многих животных и растений [66]; 3) «...человеческие субтеломеры представляют собой полиморфные неровные участки из межхромосомных сегментарных дубликаций на концах хромосом. ...Результаты цитогенетического анализа и секвенирования показали, что в ходе эволюции приматов с беспрецедентной частотой изменялось расположение и количество этих кусочков субтеломерных лоскутов. Половину известных субтеломерных последовательностей сформировали недавно через специфичные для человека переносы последовательностей и дубликации. Субтеломерная динамика привела к такому уровню дубликации генов, значительно превышающему среднее значение по геному, и может иметь как положительные, так и патологические последствия для биологии человека» [67];

4) в субтеломерах человека, «[из] 20,66 Мб проанализированной субтеломерной ДНК, 3,01 Мб приходится на субтеломерные повторяющиеся последовательности (Srpt) и еще 2,11 Мб составляют дубликации сегментов» [68]; 5) «...Высоковариабельные субтеломерные повторяющиеся участки заполнены недавно перетасованными геномными сегментами, многие из которых содержат последовательности перекрывающихся транскриптов и фрагментов транскриптов; быстрая дубликация и изменения комбинаций этих участков привели к образованию чрезвычайно разнообразного набора аллелей субтеломер у человека, сложность и потенциальное значение которых только начинают понимать» [61]; 6) у человека в субтеломерных участках наблюдается низкая плотность генов, и общее количество имеющих одну копию субтеломерных генов не превышает значение 300 [62, 68]; 7) субтеломерные последовательности необходимы для осуществления важнейших клеточных функций, таких как процессы ионного транспорта и поглощение питательных веществ [69–72] и регуляция клеточного цикла [61, 73]; 8) «...Все это вместе взятое подчеркивает важную роль субтеломер, которые способны функционировать как фактор, оптимизирующий работу различных клеточных систем» [74].

Однако все эти данные ни в коем случае не послужили доказательством существования постулированной «г» последовательности, в то время как другие эмпирические данные, которые отчасти появились недавно, описывают субтеломерные последовательности, которые имеют все характеристики, необходимые для их идентификации в качестве «г» последовательности:

а) «...эти концевые последовательности ДНК, ассоциированные с «длиннорукими» теломерами человеческих хромосом X/Y (Xq/Yq) и 10 (10q), были выделены ~ 20 лет назад и названы как TelVam3.4 и TelSau2.0 соответственно (Brown et al. 1990). В этих двух последовательностях имеются консервативные повторы, которые охватывают ~1,6 тыс. оснований (нуклеотиды 2110–3117) и ~1,3 тыс. оснований (нуклеотиды 408–1789) и до 280 нуклеотидов выше концевой ряда в TelVam3.4 и TelSau2.0 соответственно Этот консервативный участок содержит три различных набора повторов ДНК: ближайший к центромере набор состоит из тандемно повторяющихся единиц размером 61 п.о. (пять повторов в TelVam3.4 против шести повторов в TelSau2.0); во-вторых, более удаленный набор содержит тандемные повторы из 29 п.о. (9 повторов против 18); третий участок состоит из 5 тандемно повторяющихся единиц размером 37

п.о. в обеих последовательностях ... Мы называем область, содержащую тандемные повторы, как «61–29–37 повторы» и ~ 280 нт находятся между последними повторами из 37 п.о. и теломерными гексамерами в виде «pre-tel» [75];

б) первые сообщения о транскрипции субтеломерной/теломерной последовательности появились в 1989 г. в случае хромосом типа ламповых щеток у *Trypanosoma brucei* [76] и в 1994 г. у птиц [77]. Эти последовательности, обозначаемые как TElomeric Repeat-containing RNA (TERRA), были описаны у человека [78, 79], мыши [79], полосатого данио [79], растений [80] и дрожжей [81, 82]. Было показано, что последовательности TERRA сохраняются в процессе эволюции позвоночных [83];

в) «...первые идентифицированные субтеломерные промоторы содержат богатые повторами динуклеотида CpG ДНК-островки, которые локализованы во многих концевых участках хромосом [75]. Эти CpG-островки характеризуются наличием т.н. 61–29–37 повторов, локализованных сразу выше точки начала транскрипции (TSS – transcription start site) последовательности TERRA и на расстоянии равном ~1 т.п.о. от теломерного набора»;

г) у человека транскрипт TERRA образуется на специфических субтеломерных последовательностях, которые прилегают к повторяющемуся мотиву теломеры и находятся на отдалении от некоторых этих мотивов [84] (TTAGGG в ДНК человека, который выглядит как UUAGGG в транскриптах, так как Т заменяется на U в любом РНК-транскрипте). Длина транскрипта TERRA зависит от длины субтеломерной последовательности TERRA [85, 86]. Поскольку последовательности TERRA, в основном, состоят из субтеломерных последовательностей, то для них более точно подходит такое определение, как РНК, содержащая субтеломерные повторы (subTElomeric Repeat-containing RNA);

д) у млекопитающих TERRA-транскрипты обнаруживаются только во фракциях клеточного ядра, и у них обнаруживаются теломерные 5'-UUAGGG-3' РНК-повторы. Эти транскрипты имеют длину от 100 до более 9 т.п.о. [78, 79]. TERRA-транскрипты образуются в результате действия РНК-полимеразы II, которая стартует на субтеломерной ДНК и далее переходит к теломерным повторам, вовлекая некоторые из них в процесс транскрипции [78, 79];

е) TERRA-последовательности, которые представляют собой длинные некодирующие последовательности ДНК, являются общей особенностью эукариотических клеток и «становятся новыми ключевыми участниками нескольких важных биологических процессов» [84]. TERRA-

транскрипты образуются на субтеломерных промоторах, расположенных на (по крайней мере) двух третях концов хромосом [75, 87–90];

ж) сайты связывания транскрипта TERRA были обнаружены за пределами субтеломер и теломер (в основном, в интронных и межгенных участках генома). TERRA-транскрипт, по-видимому, играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов, и было показано, что в эмбриональных стволовых клетках мыши снижение уровня TERRA-транскрипта ассоциировано со снижением уровня защиты [91, 92]. «...Уровень считывания TERRA был высоким внутри субтеломерных участков почти всех хромосом (Chr), наиболее заметно хромосом 2, 9, 13, 18 и половых хромосом с мишенями, находящимися на расстоянии в десятки тысяч оснований от теломерного повтора ... TERRA также связываются внутри внутренних участков хромосом и внутри генов, где они предпочитают интроны ... TERRA связываются с мишенями на хроматине по всему геному. ...TERRA связываются с теломерой как в *цис*- и *транс*-состоянии внутри или рядом с генами» [91]. Есть свидетельства «... значительных изменений уровня экспрессии мишеней TERRA относительно генов, не являющихся мишенями, после истощения TERRA...», что указывает на то, что гены-мишени TERRA с большей вероятностью будут затронуты истощением TERRA. ... Интересно, что субтеломерные гены-мишени постоянно подавлялись ...Активность внутренних генов-мишеней может как повышаться, так и понижаться... В геноме эмбриональных стволовых клеток мыши были выявлены тысячи *цис*- и *транс*-связывающих мест на хроматине» [91]. «TERRA связывается со многими геномными локусами за пределами теломер, где некодирующая ДНК, вероятно, играет важную регуляторную роль, связанную с экспрессией генов» [84]. «...Подавляющее большинство сайтов связывания TERRA были обнаружены не на теломерах, в основном, в отдаленных участках между генами и интронах генома, где TERRA регулирует экспрессию генов. В то же время важно, что истощение TERRA в эмбриональных стволовых клетках было также связано со снижением уровня защиты теломер, что позволяет предположить, что TERRA, тем не менее, важна для целостности теломеры мыши» [84];

з) упражнения на выносливость на велосипеде повышают уровни транскриптов в образцах скелетных мышц, полученных с помощью биопсии от здоровых молодых волонтеров. Это поддерживает идею о том, что упражнения являются фактором, препятствующим старению [89].

Эти данные показывают, что последовательности TERRA: 1) широко распространены среди

видов эукариот и эволюционно консервативны; 2) выявляются в виде двух последовательностей (TelBam3.4 и TelSau2.0), хотя другие последовательности, вероятно, тоже существуют; 3) размещаются в той области молекулы ДНК, которая подвергается репрессии в корреляции с укорочением теломеры (эффект положения теломеры); 4) образуют транскрипты, которые обладают регуляторным действием на последовательности, расположенные в близлежащем сегменте молекулы ДНК (повышение активности) и на последовательности, расположенные в других частях ДНК (повышение или понижение активности); 5) выполняют действия, описанные в предыдущем пункте (4), в отношении всех молекул клеточной ДНК и не только на той, в которой каждая из них присутствует; 6) определяют большую устойчивость комплексов теломера–гетерохроматиновый капюшон и, следовательно, меньшую вероятность запуска программы клеточного старения; 7) при репрессировании вызывают общее изменение клеточных функций.

Следовательно, характеристики последовательностей TERRA точно совпадают характеристиками с гипотетической последовательностью «г». Кроме того, опубликованные данные позволяют различать и определять концевые участки ДНК, а именно, три различных сегмента, которые выделяются на конце молекулы: 1) собственно теломера (состоящая из монотонных повторов мотива); 2) регуляторная субтеломера («субтеломера R»), в которой присутствуют последовательности TERRA с их общими регуляторными функциями, которые могут быть постепенно репрессированы в соответствии с укорочением теломеры; 3) амплифицирующая субтеломера («субтеломера A»), состоящая из набора последовательностей с множественными регуляторными функциями, активность которых повышается под действием последовательностей TERRA и, поэтому их активность понижена в случае репрессии последовательностей TERRA. Эти последовательности усиливают и диверсифицируют регуляторные действия последовательностей TERRA.

Последовательности, которые находятся в других частях хромосомы и не входят в состав вышеупомянутых сегментов, повышают или понижают свою активность в результате действия TERRA-транскрипта.

Эти концепции представлены в обобщенном виде на рис. 2, который является переработкой рис. 1. Основное отличие этих двух рисунков заключается в замене гипотетической последовательности «г» на реальные последовательности TERRA.

Отдельные характеристики описанных выше механизмов нуждаются в кратких дополнениях.

Репрессия последовательностей TERRA на уровне транскрипции: 1) у мышей укорочение теломеры влияет на эпигенетический статус, т.е. метилирование субтеломерной ДНК, определяет модификацию гистонов для субтеломер и теломер [93]. «...Кроме того, отмена главных эпигенетических регуляторов, таких как метилтрансферазы гистонов и ДНК-метилтрансферазы, коррелирует с утратой контроля над длиной теломеры, и укорочение теломер до критической длины влияет на эпигенетический статус теломер и субтеломер» [93]; 2) в лейкоцитах человека «... более короткие теломеры ассоциируются с пониженным уровнем метилирования множественных сайтов цитозина, локализованных в пределах 4 Mb теломер, ... значительное увеличение количества положительно ассоциированных метилированных сайтов CpG в субтеломерных локусах (в пределах 4 Mb теломеры) ($p < 0,01$)» [94]. «Это вызывает изменения экспрессии генов и повышение риска возникновения возрастных заболеваний» [94]; 3) у мышей линии Terс(–/–) уровень метилирования субтеломерной ДНК скорее всего снижается при укорочении теломеры [95]; 4) «...было установлено, что как у здоровых людей, так и у больных саркоидозом, количество длинных теломер ($> 9,4$ т.п.о.) с возрастом уменьшается, а количество коротких теломер ($< 4,4$ т.п.о.) возрастает наряду с относительным увеличением числа длинных теломер с гиперметилированными субтеломерами и короткими теломер с пониженным уровнем метилирования субтеломер. Эти данные позволяют предположить, что укорочение теломер с возрастом ассоциируется с пониженным метилированием окружающих их субтеломер» [96].

Эти эмпирические данные показывают, что: 1) субтеломера подвергается метилированию и деметилированию определенными ферментами; 2) более длинные теломеры в большей степени метилированы, и наоборот; и, следовательно, каким-то образом; 3) капюшон мешает метилированию субтеломеры, таким образом подавляя последовательности TERRA.

СТРУКТУРА ГЕТЕРОХРОМАТИНОВОГО КАПЮШОНА

Структура капюшона, который накрывает и защищает теломеру, до сих пор неизвестна. Однако можно предложить рабочую гипотезу, берущую начало от факта, что теломера защищена группой белков, которую определяют как комплексы шелтерина [97] (рис. 3).

Переработка изображения теломеры, защищенной комплексами шелтерина, где белок POT1 фиксируется на конце теломеры и кажется наклоненным [98] (рис. 4, сверху). Предполагается, что капюшон может состоять их серии комплексов шелтерина, соединенных вместе белком POT1 (рис. 4, внизу). В пользу этой гипотезы свидетельствует факт, что: «незащищен-

ность теломеры вследствие нокдауна шелтерина TRF2 или контакт с олигонуклеотидами G-цепи ДНК теломеры приводит к значительному увеличению уровня транскрипции TERRA...» [99].

Репрессия или отсутствие репрессии капюшоном близлежащей субтеломеры. Неизвестно как капюшон ингибирует прилегающую субтеломеру. Однако трудно представить, что происходит

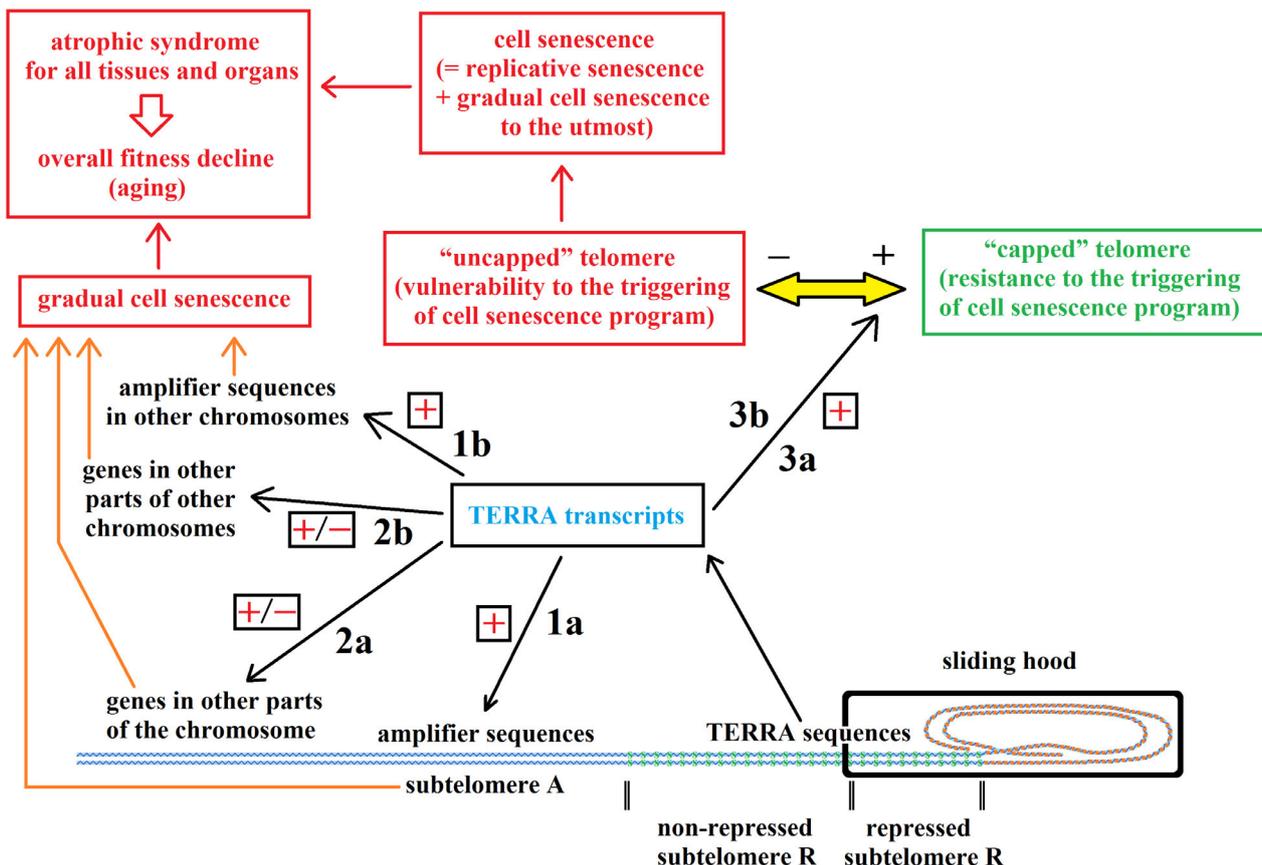


Рис. 2. Диаграмма теории субтеломеры–теломеры (переработка рис. 1). 1) действия вблизи амплифицирующей последовательности; 2) действия на отдалении от амплифицирующей последовательности; 3) воздействия на равновесие между закрытой и незащищенной теломерой. Действия: а) на ту же молекулу ДНК; б) на другие молекулы ДНК в той же самой клетке; они могут выражаться: (+) повышение активности или (-) понижение активности. Усиливающаяся репрессия последовательности TERRA вызывает снижение активности TERRA-транскрипта и прогрессивное постепенное клеточное старение и повышение вероятности запуска программы клеточного старения

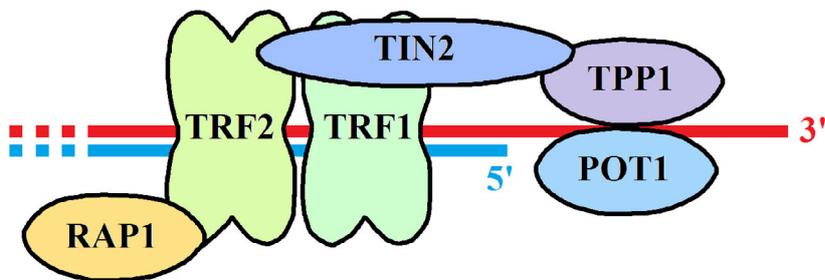


Рис. 3. Диаграмма комплекса шелтерина (shelterin) (из [97], изменена и перерисована)

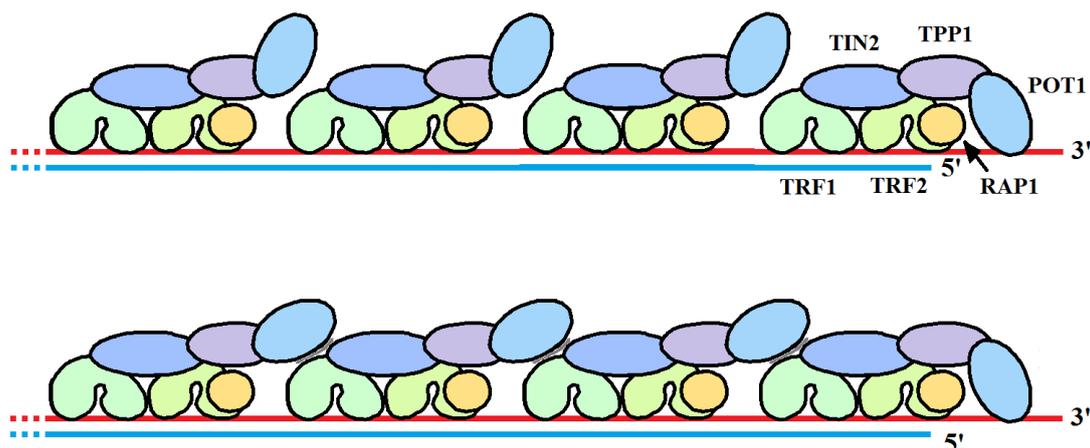


Рис. 4. Верхняя часть: рис. 1b из [98], изменен и перерисован; нижняя часть: возможная структура капюшона

полное отделение капюшона от теломеры, поскольку это может привести к возникновению проблем с точностью последующего повторного спаривания. Два конца каждого капюшона могут колебаться от тесного контакта с молекулой ДНК и частичным отделением от неё, таким образом позволяя в этом втором состоянии на одном конце метилирование субтеломеры и на другом конце доступность теломеразы и белковых ферментативных комплексов, отвечающих за дубликацию молекулы ДНК.

Формирование капюшона и его репликация с сохранением размера при каждой дубликации. Эти вопросы не изучены. Однако они будут основными объектами исследования для лучшего понимания машинерии комплекса субтеломера–теломера–гетерохроматиновый капюшон.

АКТИВАЦИЯ ПРОГРАММЫ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ

Запуск программы клеточного старения коррелирует с укорочением теломеры, однако неизвестно, как это происходит. Активация программы клеточного старения может брать начало с единичного комплекса капюшона и теломеры, в котором происходит полное отделение капюшона от теломеры. Возможно, это каким-то образом навсегда блокирует теломеру в открытом состоянии и затем стимулирует блокаду других теломер.

ВЫВОДЫ

Субтеломера (более точно, субтеломера R) обладает общими регуляторными последовательностями (TERRA), чье репрессирование оп-

ределяет бесчисленные клеточные изменения, которые выражаются в макроскопических проявлениях старения. Благодаря своему расположению, эти последовательности подвержены эффекту положения теломер, т.е. когда теломера укорачивается, то происходит ее репрессия. Такое уязвимое положение для чрезвычайно важной последовательности трудно объяснить без принятия тезиса о том, что старение является адаптацией.

Явления, описанные в рамках теории субтеломера–теломеры (ограничения теломеразной активности, постепенное старение клеток, клеточное старение, последовательности TERRA и др.), не кажутся оправданными в качестве общей защиты от рака, как предполагают некоторые сторонники неадаптивной теории старения по причинам, уже обсуждавшимся в других работах [11, 25, 30, 100]: а) в человеческой популяции, изученной в условиях дикой природы, многие умерли от прогрессирующего возрастного снижения сопротивляемости различным вредным воздействиям (возрастное снижение физической формы, старение), в то время как не было описано ни одного случая рака (хотя некоторые редкие случаи смерти пожилых людей возможно были связаны с раком). Точно также в популяциях диких животных, случаи рака очень редки, но при этом наблюдается усиливающийся рост смертности (старение), связанный с возрастом, который является причиной большинства смертных случаев. Если механизмы, лежащие в основе прогрессирующего увеличения смертности с возрастом, какими бы они ни были, были защитой от рака, то мы дойдем до абсурда, что гипотетическая защита от редкой причины смерти убивает большую часть популяции; б) «молодые» и «старые» особи из видов, демонстрирующих отсутствие заметного возра-

стного снижения физической активности («животные с незначительным старением», например, радужная форель и лобстер), имеют в дикой природе такую же теломеразную активность без какой-либо возрастной повышенной уязвимости к раку, о чем свидетельствует постоянный уровень смертности в любом возрасте; в) укорочение теломер вызывает нестабильность ДНК и повышает вероятность возникновения рака; г) прогрессирующее снижение клеточных функций, ассоциированное с укорочением теломеры (постепенное старение), является неправдоподобной защитой от пролиферации неопластических; д) у мышей избирательная элиминация стареющих клеток контрастирует некоторым возрастным изменениям, задерживает прогрессирование онкологических болезней и повышает продолжительность жизни. Более того, секреторный фенотип стареющих клеток обладает свойствами онкогенов. Это противоречит возможности того, что стареющие клетки являются защитой от рака; е) постепенное старение и клеточное старение прогрессивно ослабляют иммунную систему, повышая уязвимость перед раком и заболеваемость раком; ж) в «материнской» линии эукариотических одноклеточных видов, например, у дрожжей, явления, такие как репликативное старение, апоптоз и общее снижение клеточных функций, связанное с количеством дупликаций (вызванное накоплением внехромосомных кольцевых ДНК, а не укорочением теломер), известны, и они определяются как старение. Они не могут служить защитой от рака, который невозможен у одноклеточных видов.

Согласно теории субтеломеры–теломеры, репрессия регуляторных последовательностей, имеющих огромное значение для функционирования клетки, является основной частью механизмов старения, и поэтому последовательности TERRA и их транскрипты, вероятно, составляют основу механизмов старения. Их существование и действие демонстрируют явное свидетельство реальности генетически определенных и модулируемых механизмов, которые могут определять старение.

Однако необходимо подтвердить гипотезы, касающиеся капюшона (он имеет фиксированную длину, и как эта длина сохраняется при каждой дупликации), прежде, чем мы сможем рассматривать общую теорию субтеломеры–теломеры как приемлемую или подтвержденную. Кроме того, прежде чем это возможно подтвердить, важно и необходимо внимательно рассмотреть альтернативные теории, в частности, теорию антагонистической плейотропии и теорию одноразовой сомы, как возможные объяснения последовательности TERRA, даже если эти теории также нуждаются в доказательствах.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов в финансовой или какой-либо иной области.

Соблюдение этических норм. Данная работа не содержит каких-либо исследований, в которых в качестве объектов были использованы люди или животные.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Libertini, G. (1988) An adaptive theory of the increasing mortality with increasing chronological age in populations in the wild, *J. Theor. Biol.*, **132**, 145-162, doi: 10.1016/s0022-5193(88)80153-x.
- Kirkwood, T. B., and Austad SN. (2000) Why do we age? *Nature*, **408**, 233-238, doi: 10.1038/35041682.
- Comfort, A. (1979) *The Biology of Senescence*, Livingstone, London.
- Hayflick, L. (2007) Entropy explains aging, genetic determinism explains longevity, and undefined terminology explains misunderstanding both, *PLoS Genet.*, **3**, e220, doi: 10.1371/journal.pgen.0030220.
- Weinert, B. T., and Timiras, P. S. (2003) Invited review: theories of aging, *J. Appl. Physiol.*, **95**, 1706-1716, doi: 10.1152/jappphysiol.00288.2003.
- Molnár, K. (1972) Subbiological aspects of aging and the concept of cathode protection, *Mech. Ageing Dev.*, **1**, 319-326, doi: 10.1016/0047-6374(72)90077-2.
- Oliveira, B. F., Nogueira-Machado, J.-A., and Chaves, M. M. (2010) The role of oxidative stress in the aging process, *Sci. World J.*, **10**, 1121-1128, doi: 10.1100/tsw.2010.94.
- Sanz, A., and Stefanatos, R. K. (2008) The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view, *Curr. Aging Sci.*, **1**, 10-21, doi: 10.2174/1874609810801010010.
- Fülöp, T., Witkowski, J. M., Pawelec, G., Alan, C., and Larbi, A. (2014) On the immunological theory of aging, *Interdiscip. Top. Gerontol.*, **39**, 163-176, doi: 10.1159/000358904.
- Libertini, G. (2015) Non-programmed versus programmed aging paradigm, *Curr. Aging Sci.*, **8**, 56-68, doi: 10.2174/1874609808666150422111623.
- Libertini, G. (2009) The role of telomere-telomerase system in age-related fitness decline, a tameable process, in *Telomeres: Function, Shortening and Lengthening* (Mancini, L., ed.) Nova Science Publ., New York, pp. 77-132.
- Libertini, G. (2015) Phylogeny of aging and related phenoptotic phenomena, *Biochemistry (Moscow)*, **80**, 1529-1546, doi: 10.1134/S0006297915120019.
- Weismann, A. (1889) in *Essays Upon Heredity and Kindred Biological Problems* (Poulton, E. B., Schonland, S., and Shipley, A. E., eds.) Vol. I, Clarendon Press, Oxford (UK).
- Leopold, A. C. (1961) Senescence in plant development, *Science*, **134**, 1727-1732, doi: 10.1126/science.134.3492.1727.
- Travis, J. M. (2004) The evolution of programmed death in a spatially structured population, *J. Gerontol. A Biol. Med. Sci.*, **59**, 301-305, doi: 10.1093/gerona/59.4.b301.
- Martins, A. C. (2011) Change and aging senescence as an adaptation, *PLoS One*, **6**, e24328., doi: 10.1371/journal.pone.0024328.

17. Mitteldorf, J., and Martins, A. C. (2014) Programmed life span in the context of evolvability, *Am. Nat.*, **184**, 289-302, doi: 10.1086/677387.
18. Skulachev, V. P. (1997) Aging is a specific biological function rather than the result of a disorder in complex living systems: biochemical evidence in support of Weismann's hypothesis, *Biochemistry (Moscow)*, **62**, 1191-1195.
19. Libertini, G. (2012) Classification of phenoptotic phenomena, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 707-715, doi: 10.1134/S0006297912070024.
20. Finch, C. E. (1990) *Longevity, Senescence, and the Genome*, University of Chicago Press, Chicago.
21. Jones, O. R., Scheuerlein, A., Salguero-Gómez, R., Camarda, C. G., Schaible, R., et al. (2014) Diversity of ageing across the tree of life, *Nature*, **505**, 169-173, doi: 10.1038/nature12789.
22. Olshansky, S. J., Hayflick, L., and Carnes, B. A. (2002) Position statement on human aging, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **57**, 292-297, doi: 10.1016/j.cub.2011.07.020.
24. Gladyshev, V. N. (2016) Aging: progressive decline in fitness due to the rising deleteriome adjusted by genetic, environmental, and stochastic processes, *Aging Cell*, **15**, 594-602, doi: 10.1111/acel.12480.
25. Mitteldorf, J. (2013) Telomere biology: cancer firewall or aging clock? *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 1054-1060, doi: 10.1134/S0006297913090125.
26. Fossel, M. B. (2004) *Cells, Aging and Human Disease*, Oxford University Press, New York.
27. Libertini, G., Ferrara, N., Rengo, G., and Corbi, G. (2018) Elimination of senescent cells: prospects according to the subtelomere-telomere theory, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1477-1488, doi: 10.1134/S0006297918120064.
28. Libertini, G., Corbi, G., Cellurale, M., Ferrara, N. (2019) Age-related dysfunctions: evidence and relationship with some risk factors and protective drugs, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1442-1450, doi: 10.1134/S0006297919120034.
29. Libertini, G. (2014) The programmed aging paradigm: how we get old, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1004-1016, doi: 10.1134/S0006297914100034.
30. Libertini, G., and Ferrara, N. (2016) Possible interventions to modify aging, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 1413-1428, doi: 10.1134/S0006297916120038.
31. Hayflick, L., and Moorhead, P. S. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, **25**, 585-621, doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.
32. Olovnikov, A. M. (1971) Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides, *Doklady Biochem.*, **201**, 394-397.
33. Olovnikov, A. M. (1973) A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin in enzyme synthesis of polynucleotides and biological significance of the problem, *J. Theor. Biol.*, **41**, 181-190, doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7.
34. Greider, C. W., and Blackburn, E. H. (1985) Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts, *Cell*, **43**, 405-413, doi: 10.1016/0092-8674(85)90170-9.
35. Van Steensel, B., and de Lange, T. (1997) Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1, *Nature*, **385**, 740-743, doi: 10.1038/385740a0.
36. Blackburn, E. H., and Gall, J. G. (1978) A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena, *J. Mol. Biol.*, **120**, 33-53, doi: 10.1016/0022-2836(78)90294-2.
37. Moyzis, R. K., Buckingham, J. M., Cram, L. S., Dani, M., Deaven, L. L., Jones, M. D., Meyne, J., Ratliff, R. L., and Wu, J. R. (1988) A highly conserved repetitive DNA sequence (TTAGGG)n, present at the telomeres of human chromosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 6622-6626, doi: 10.1073/pnas.85.18.6622.
38. Blackburn, E. H. (1991) Structure and function of telomeres, *Nature*, **350**, 569-573, doi: 10.1038/350569a0.
39. Pontèn, J., Stein, W. D., and Shall, S. (1983) A quantitative analysis of the aging of human glial cells in culture, *J. Cell Phys.*, **117**, 342-352, doi: 10.1002/jcp.1041170309.
40. Jones, R. B., Whitney, R. G., and Smith, J. R. (1985) Intramitotic variation in proliferative potential: stochastic events in cellular aging, *Mech. Ageing Dev.*, **29**, 143-149, doi: 10.1016/0047-6374(85)90014-4.
41. Blackburn, E. H. (2000) Telomere states and cell fates, *Nature*, **408**, 53-56, doi: 10.1038/35040500.
42. Gottschling, D. E., Aparicio, O. M., Billington, B. L., and Zakian, V. A. (1990) Position effect at *S. cerevisiae* telomeres: reversible repression of Pol II transcription, *Cell*, **63**, 751-776, doi: 10.1016/0092-8674(90)90141-z.
43. Baur, J. A., Wright, W. E., and Shay, J. W. (2004) Analysis of mammalian telomere position effect, *Methods Mol. Biol.*, **287**, 121-136, doi: 10.1385/1-59259-828-5:121.
44. Baur, J. A., Zou, Y., Shay, J. W., and Wright, W. E. (2001) Telomere position effect in human cells, *Science*, **292**, 2075-2077, doi: 10.1126/science.1062329.
45. Surace, C., Berardinelli, F., Masotti, A., Roberti, M. C., Da Sacco, L., et al. (2014) Telomere shortening and telomere position effect in mild ring 17 syndrome, *Epigenetics Chromatin*, **7**, 1, doi: 10.1186/1756-8935-7-1.
46. Smeal, T., Claus, J., Kennedy, B., Cole, F., and Guarente, L. (1996) Loss of transcriptional silencing causes sterility in old mother cells of *Saccharomyces cerevisiae*, *Cell*, **84**, 633-642, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81038-7.
47. Maringele, L., and Lydall, D. (2004) Telomerase- and recombination-independent immortalization of budding yeast, *Genes Dev.*, **18**, 2663-2275, doi: 10.1101/gad.316504.
48. Sinclair, D. A., and Guarente, L. (1997) Extrachromosomal rDNA circles – a cause of aging in yeast, *Cell*, **91**, 1033-1042, doi: 10.1016/s0092-8674(00)80493-6.
49. Laun, P., Pichova, A., Madeo, F., Fuchs, J., Ellinger, A., Kohlwein, S., Dawes, I., Fröhlich, K. U., and Breitenbach, M. (2001) Aged mother cells of *Saccharomyces cerevisiae* show markers of oxidative stress and apoptosis, *Mol. Microbiol.*, **39**, 1166-1173, doi: 10.1111/j.1365-2958.2001.02317.x.
50. Büttner, S., Eisenberg, T., Herker, E., Carmona-Gutierrez, D., Kroemer, G., and Madeo, F. (2006) Why yeast cells can undergo apoptosis: death in times of peace, love, and war, *J. Cell Biol.*, **175**, 521-525, doi: 10.1083/jcb.200608098.
51. Jazwinski, S. M. (1993) The genetics of aging in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Genetica*, **91**, 35-51, doi: 10.1007/bf01435986.
52. Lesur, I., and Campbell, J. L. (2004) The transcriptome of prematurely aging yeast cells is similar to that of telomerase-deficient cells, *MBC Online*, **15**, 1297-1312, doi: 10.1091/mbc.e03-10-0742.
53. Ben-Porath, I., and Weinberg, R. (2005) The signals and pathways activating cellular senescence, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **37**, 961-976, doi: 10.1016/j.biocel.2004.10.013.
54. Kirkland, J. L., and Tchkonja, T. (2017) Cellular senescence: a translational perspective, *EBioMedicine*, **21**, 21-28, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.04.013.
55. Richardson, B. R., Allan, D. S., and Le, Y. (2014) Greater organ involution in highly proliferative tissues associated with the early onset and acceleration of ageing in humans, *Exp. Gerontol.*, **55**, 80-91, doi: 10.1016/j.exger.2014.03.015.
56. Libertini, G. (2017) The feasibility and necessity of a revolution in geriatric medicine, *OBM Geriatrics*, **1**, doi: 10.21926/obm.geriat.1702002.

57. Libertini, G., and Ferrara, N. (2016) Aging of perennial cells and organ parts according to the programmed aging paradigm, *Age (Dordr.)*, **38**, 1-13, doi: 10.1007/s11357-016-9895-0.
58. Gorbunova, V., Bozzella, M. J., and Seluanov, A. (2008) Rodents for comparative aging studies: from mice to beavers, *Age (Dordr.)*, **30**, 111-119, doi: 10.1007/s11357-008-9053-4.
59. Lanza, R. P., Cibelli, J. B., Faber, D., Sweeney, R. W., Henderson, B., Nevala, W., West, M. D., and Wettstein, P. J. (2001) Cloned cattle can be healthy and normal, *Science*, **294**, 1893-1894, doi: 10.1126/science.1063440.
60. Londoño-Vallejo, J. A., DerSarkissian, H., Cazes, L., and Thomas, G. (2001) Differences in telomere length between homologous chromosomes in humans, *Nucleic Acids Res.*, **29**, 3164-3171, doi: 10.1093/nar/29.15.3164.
61. Riethman, H., Ambrosini, A., and Paul, S. (2005) Human subtelomere structure and variation, *Chromosome Res.*, **13**, 505-515, doi: 10.1007/s10577-005-0998-1.
62. Riethman, H. (2008) Human telomere structure and biology, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, **9**, 1-19, doi: 10.1146/annurev.genom.8.021506.172017.
63. Stong, N., Deng, Z., Gupta, R., Hu, S., Paul, S., et al. (2014) Subtelomeric CTCF and cohesin binding site organization using improved subtelomere assemblies and a novel annotation pipeline, *Genome Res.*, **24**, 1039-1050, doi: 10.1101/gr.166983.113.
64. Mefford, H. C., and Trask, B. J. (2002) The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres, *Nat. Rev. Genet.*, **3**, 91-102, doi: 10.1038/nrg727.
65. Torres, G. A., Gong, Z., Iovene, M., Hirsch, C. D., Buell, C. R., et al. (2011) Organization and evolution of subtelomeric satellite repeats in the potato genome, *G3 (Bethesda)*, **1**, 85-92, doi: 10.1534/g3.111.000125.
66. Sharma, S., and Raina, S. N. (2005) Organization and evolution of highly repeated satellite DNA sequences in plant chromosomes, *Cytogenet. Genome Res.*, **109**, 15-26, doi: 10.1159/000082377.
67. Linardopoulou, E. V., Williams, E. M., Fan, Y., Friedman, C., Young, J. M., and Trask, B. J. (2005) Human subtelomeres are hot spots of interchromosomal recombination and segmental duplication, *Nature*, **437**, 94-100, doi: 10.1038/nature04029.
68. Riethman, H., Ambrosini, A., Castaneda, C., Finklestein, J., Hu, X. L., Mudunuri, U., Paul, S., and Wei, J. (2004) Mapping and initial analysis of human subtelomeric sequence assemblies, *Genome Res.*, **14**, 18-28, doi: 10.1101/gr.1245004.
69. Ames, R. M., Rash, B. M., Hentges, K. E., Robertson, D. L., Delneri, D., and Lovell, S. C. (2010) Gene duplication and environmental adaptation within yeast populations, *Genome Biol. Evol.*, **2**, 591-601, doi: 10.1093/gbe/evq043.
70. Brown, C. A., Murray, A. W., and Verstrepen, K. J. (2010) Rapid expansion and functional divergence of subtelomeric gene families in yeasts, *Curr. Biol.*, **20**, 895-903, doi: 10.1016/j.cub.2010.04.027.
71. Bergström, A., Simpson, J. T., Salinas, F., Barré, B., Parts, L., et al. (2014) A high-definition view of functional genetic variation from natural yeast genomes, *Mol. Biol. Evol.*, **31**, 872-888, doi: 10.1093/molbev/msu037.
72. Louis, E. J., and Becker, M. M. (2014) Subtelomeres, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, doi: 10.1007/978-3-642-41566-1.
73. Podgornaya, O. I., Ostromyshenskii, D. I., and Enukashvily, N. I. (2018) Who needs this junk, or genomic dark matter, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 450-466, doi: 10.1134/S0006297918040156.
74. Olovnikov, A. M., Solovieva, A. S., and Shubernetskaya, O. S. (2019) Subtelomere, in *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging* (Gu, D., and Dupre, M., eds.) Springer, Cham, doi: 10.1007/978-3-319-69892-2_56-1.
75. Nergadze, S. G., Farnung, B. O., Wischniewski, H., Khoraiuli, L., Vitelli, V., Chawla, R., Giulotto, E., and Azzalin, C. M. (2009) CpG-island promoters drive transcription of human telomeres, *RNA*, **15**, 2186-2194, doi: 10.1261/rna.1748309.
76. Rudenko, G., and Van der Ploeg, L. H. (1989) Transcription of telomere repeats in protozoa, *EMBO J.*, **8**, 2633-2638, PMID: 2511008.
77. Solovei, I., Gaginskaya, E. R., and Macgregor, H. C. (1994) The arrangement and transcription of telomere DNA sequences at the ends of lampbrush chromosomes of birds, *Chromosome Res.*, **2**, 460-470, doi: 10.1007/bf01552869.
78. Azzalin, C. M., Reichenbach, P., Khoraiuli, L., Giulotto, E., and Lingner, J. (2007) Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends, *Science*, **318**, 798-801, doi: 10.1126/science.1147182.
79. Schoeftner, S., and Blasco, M. A. (2008) Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II, *Nat. Cell Biol.*, **10**, 228-236, doi: 10.1038/ncb1685.
80. Vrbsky, J., Akimcheva, S., Watson, J. M., Turner, T. L., Daxinger, L., Vyskot, B., Aufsatz, W., and Riha, K. (2010) siRNA-mediated methylation of *Arabidopsis* telomeres, *PLoS Genet.*, **6**, e1000986, doi: 10.1371/journal.pgen.1000986.
81. Luke, B., Panza, A., Redon, S., Iglesias, N., Li, Z., and Lingner, J. (2008) The Rat1p 5' to 3' exonuclease degrades telomeric repeat-containing RNA and promotes telomere elongation in *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Cell*, **32**, 465-477, doi: 10.1016/j.molcel.2008.10.019.
82. Greenwood, J., and Cooper, J. P. (2012) Non-coding telomeric and subtelomeric transcripts are differentially regulated by telomeric and heterochromatin assembly factors in fission yeast, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 2956-2963, doi: 10.1093/nar/gkr1155.
83. Azzalin, C. M., and Lingner, J. (2008) Telomeres: the silence is broken, *Cell Cycle*, **7**, 1161-1165, doi: 10.4161/cc.7.9.5836.
84. Diman, A., and Decottignies, A. (2018) Genomic origin and nuclear localization of TERRA telomeric repeat-containing RNA: from darkness to dawn, *FEBS J.*, **285**, 1389-1398, doi: 10.1111/febs.14363.
85. Feuerhahn, S., Iglesias, N., Panza, A., Porro, A., and Lingner, J. (2010) TERRA biogenesis, turnover and implications for function, *FEBS Lett.*, **584**, 3812-3818, doi: 10.1016/j.febslet.2010.07.032.
86. Porro, A., Feuerhahn, S., Reichenbach, P., and Lingner, J. (2010) Molecular dissection of telomeric repeat-containing RNA biogenesis unveils the presence of distinct and multiple regulatory pathways, *Mol. Cell Biol.*, **30**, 4808-4817, doi: 10.1128/MCB.00460-10.
87. Deng, Z., Wang, Z., Stong, N., Plasschaert, R., Moczan, A., et al. (2012) A role for CTCF and cohesin in subtelomeric chromatin organization, TERRA transcription, and telomere end protection, *EMBO J.*, **31**, 4165-4178, doi: 10.1038/emboj.2012.266.
88. Porro, A., Feuerhahn, S., Delafontaine, J., Riethman, H., Rougemont, J., and Lingner, J. (2014) Functional characterization of the TERRA transcriptome at damaged telomeres, *Nat. Commun.*, **5**, 5379, doi: 10.1038/ncomms6379.
89. Diman, A., Boros, J., Poulain, F., Rodriguez, J., Purnelle, M., et al. (2016) Nuclear respiratory factor 1 and endurance exercise promote human telomere transcription, *Sci. Adv.*, **2**, e1600031, doi: 10.1126/sciadv.1600031.
90. Feretzaki, M., and Lingner, J. (2017) A practical qPCR approach to detect TERRA, the elusive telomeric repeat-

- containing RNA, *Methods*, **114**, 39–45, doi: 10.1016/j.ymeth.2016.08.004.
91. Chu, H.-P., Cifuentes-Rojas, C., Kesner, B., Aeby, E., Lee, H.-G., et al. (2017) TERRA RNA antagonizes ATRX and protects telomeres, *Cell*, **170**, 86–101, doi: 10.1016/j.cell.2017.06.017.
 92. Chu, H.-P., Froberg, J. E., Kesner, B., Oh, H. J., Ji, F., Sadreyev, R., Pinter, S. F., and Lee, J. T. (2017) PAR-TERRA directs homologous sex chromosome pairing, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 620–631, doi: 10.1038/nsmb.3432.
 93. Blasco, M. A. (2007) The epigenetic regulation of mammalian telomeres, *Nat. Rev. Genet.*, **8**, 299–309, doi: 10.1038/nrg2047.
 94. Buxton, J. L., Suderman, M., Pappas, J. J., Borghol, N., McArdle, W., et al. (2014) Human leukocyte telomere length is associated with DNA methylation levels in multiple subtelomeric and imprinted loci, *Sci. Rep.*, **4**, 4954, doi: 10.1038/srep04954.
 95. Benetti, R., García-Cao, M., and Blasco, M. A. (2007) Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres, *Nat. Genet.*, **39**, 243–250, doi: 10.1038/ng1952.
 96. Maeda, T., Guan, J. Z., Higuchi, Y., Oyama, J., and Makino, N. (2009) Aging-related alterations of subtelomeric methylation in sarcoidosis patients, *J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.*, **64**, 752–760, doi: 10.1093/gerona/glp049.
 97. Jones, M., Bisht, K., Savage, S. A., Nandakumar, J., Keegan, C. E., and Maillard, I. (2016) The shelterin complex and hematopoiesis, *J. Clin. Invest.*, **126**, 1621–1629, doi: 10.1172/JCI184547.
 98. Stewart, J. A., Chaiken, M. F., Wang, F., and Price, C. M. (2012) Maintaining the end: roles of telomere proteins in end-protection, telomere replication and length regulation, *Mutat. Res.*, **730**, 12–19, doi: 10.1016/j.mrfmm.2011.08.011.
 99. Caslini, C., Connelly, J. A., Serna, A., Broccoli, D., and Hess, J. L. (2009) MLL associates with telomeres and regulates telomeric repeat-containing RNA transcription, *Mol. Cell Biol.*, **29**, 4519–4526, doi: 10.1128/MCB.00195-09.
 100. Libertini, G. (2013) Evidence for aging theories from the study of a hunter-gatherer people (Ache of Paraguay), *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 1023–1032, doi: 10.1134/S0006297913090083.

IMPORTANCE AND MEANING OF TERRA SEQUENCES FOR AGING MECHANISMS

Review

G. Libertini^{1*}, G. Corbi², and N. Ferrara³

¹ *Independent researcher, member of the Italian Society for Evolutionary Biology, 14100 Asti, Italy; E-mail: giacinto.libertini@yahoo.com*

² *Department of Medicine and Health Sciences, University of Molise, and Italian Society of Gerontology and Geriatrics (SIGG), 86100 Campobasso, Italy*

³ *Department of Translational Medical Sciences, Federico II University of Naples, 80131 Naples, Italy*

Received May 11, 2020

Revised July 18, 2020

Accepted July 31, 2020

Any theory suggesting an adaptive meaning for aging implicitly postulates the existence of specific mechanisms, genetically determined and modulated, causing organism's progressive decline. According to the subtelomere–telomere theory, each telomere is covered by a hood formed in the first cell of an organism and having a size preserved at each subsequent duplication. Telomere shortening, which is quantitatively different for each cell type according to telomerase regulation, causes the hood to slide on the subtelomere repressing it by telomeric position effect. At this point, the theory postulates the existence of subtelomeric regulatory sequences whose progressive transcriptional repression by the hood should cause cellular alterations that would be the likely determinant of aging manifestations. However, sequences with the characteristics of these hypothetical sequences have already been described and documented. They are the [sub]Telomeric Repeat-containing RNA (TERRA) sequences. The repression of TERRA sequences causes progressively: (i) down- or up-regulation of many other regulatory sequences; and (ii) increase in the probability of activation of cell senescence program (blockage of the ability to replicate and alterations at the highest degree of cellular functions). When cell senescence program has not been triggered and the repression is partial, there is a partial alteration of cellular functions that is easily reversible by telomerase activation. The location of extremely important sequences in chromosomal parts that are most vulnerable to repression by the telomeric hood is evolutionarily unjustifiable if aging is not considered adaptive: this location must be necessarily adaptive with the specific function of determining the aging of the cell and consequently of the whole organism.

Keywords: adaptive aging paradigm, aging, aging mechanisms, subtelomere, telomere, TERRA sequences