

УДК 577.24

СУЩЕСТВУЮТ ЛИ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА В ПОЛЬЗУ СУБТЕЛОМЕРНО-ТЕЛОМЕРНОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ?

Обзор

© 2021 G. Libertini^{1,2*}, O. Shubernetskaya³, G. Corbi^{4,5}, and N. Ferrara^{2,6}

¹ Member of the Italian Society for Evolutionary Biology (SIBE), 14100 Asti, Italy; e-mail: giacinto.libertini@yahoo.com

² Department of Translational Medical Sciences, Federico II University of Naples, 80131 Naples, Italy

³ Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 117997 Moscow, Russia

⁴ Department of Medicine and Health Sciences, University of Molise, 86100 Campobasso, Italy

⁵ Italian Society of Gerontology and Geriatrics (SIGG), 50129 Firenze, Italy

⁶ Istituti Clinici Scientifici Maugeri SPA – Società Benefit, IRCCS, 82037 Telese Terme (BN), Italy

Поступила в редакцию 16.06.2021

После доработки 30.07.2021

Принята к публикации 02.09.2021

Теломерная теория описывает механизм клеточного старения, согласно которому старение происходит в основном за счет укорочения теломер при каждой дупликации клеток. Субтеломерно-теломерная теория лишена ряда недостатков первой теории и постулирует значительную роль субтеломерной ДНК в механизмах старения. В настоящей работе проведен углубленный анализ соответствия между положениями и следствиями субтеломерно-теломерной теории и результатами экспериментов. В частности, проанализированы данные касательно взаимосвязи между старением и i) эпигенетическими модификациями; ii) окислением и воспалением; iii) защитой теломеры; iv) теломерным гетерохроматиновым кэпом; v) постепенным клеточным старением; vi) клеточным старением; vii) угасанием организма по мере укорочения теломер. В целом, приведенные в работе данные свидетельствуют в пользу субтеломерно-теломерной теории или, по крайней мере, ей не противоречат. Вкратце, феномен клеточного старения, которое через различные пути в конечном итоге обуславливает старение всего организма, в значительной степени зависит от эпигенетических модификаций, регулируемых системой субтеломера–теломера–теломерный кэп–теломераза. Процессы, опосредующие клеточное старение, по-видимому, не являются случайными, неизбежными и необратимыми, а, скорее, вызываются и регулируются генетически предопределенными механизмами, соответственно, они подвержены изменениям и могут быть обратимы соответствующими способами. В целом, приведенные данные поддерживают тезис о том, что старение является генетически запрограммированным и регулируемым фенотипическим явлением и свидетельствуют против предположения, что старение вызвано случайным и неизбежным действием дегенеративных факторов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: старение, фенотипоз, теломера, субтеломера, эпигенетические изменения, постепенное клеточное старение, клеточное старение, теломерный гетерохроматиновый кэп.

DOI: 10.31857/S0320972521120022

ВВЕДЕНИЕ

В этом разделе будет представлен набор концепций и фактов, уже рассмотренных в недавно опубликованных работах [1–3], и для краткости большинство ссылок будут опущены.

Для объяснения феномена старения используются две противоположные парадигмы. В случае первой парадигмы, «непрограммированного или неадаптивного старения», последнее обусловлено случайным накоплением эффектов различных дегенеративных факторов, которым не было оказано достаточного противостояния в ходе естественного отбора.

Многие теории принадлежат к первой парадигме [3]. В первой большой группе теорий высказывается предположение, что старение является неизбежным следствием накопления повреждений различного типа. На сегодняшний день многие теории из этой группы представляют интерес только с исторической точки зрения. Они берут начало в XIX и первой половине XX века и объясняют старение «износом» клеток, механохимическим разрушением клеточных коллоидов, неизбежными тканеспецифичными изменениями (нервной, эндокринной, сосудистой и соединительнотканной систем), токсичными продуктами жизнедеятельности кишечных бактерий, накоплением «метаплазмы» или метаболитов и др. К этой группе также

* Адресат для корреспонденции.

относятся различные модернизированные популярные теории и современные концепции, которые связывают старение с накоплением химических повреждений из-за ошибок транскрипции ДНК, пагубными последствиями окисления, воздействием свободных радикалов на весь организм в целом, а также на митохондрии или ДНК, воспалительными явлениями и возраст-зависимыми нарушениями работы иммунной системы (инфламейджинг, «inflammaging»). Отдельные работы, посвященные этим теориям, процитированы ниже в разделе «Старение, окисление и воспаление».

В других популярных теориях непрограммированного старения, таких как гипотеза накопления мутаций, гипотеза антагонистической плейотропии и гипотеза одноразовой сомы, все же в какой-то мере учитываются механизмы эволюции.

Несмотря на огромное разнообразие этих теорий, всех их объединяет одна фундаментальная концепция. Поскольку старение определенно вредно для индивида, то естественный отбор может работать только на то, чтобы противостоять старению. Следовательно, недопустимо или неприемлемо существование адаптивных физиологических механизмов любого рода, которые могут определять старение.

В случае второй парадигмы, «программированного или адаптивного старения», оно предопределено и модулируется генами, которым на супраиндивидуальном уровне благоприятствует естественный отбор, даже в том случае, когда они имеют негативный эффект на уровне индивида и принадлежат к категории фенотипического феномена (принесение в жертву индивида согласно механизмам супраиндивидуального отбора) [4, 5].

Теорий, принадлежащих ко второй парадигме, немного [3], и они требуют существования специфических механизмов, опосредующих старение. Следовательно, эмпирические данные, демонстрирующие существование таких механизмов, решительно поддерживают обоснованность теорий, принадлежащих второй парадигме, и выступают против допустимости первой парадигмы и соответствующих ей теорий.

В течение определенного периода в основном в контексте и в поддержку второй парадигмы считалось, что прогрессирующее укорочение теломер при каждой дупликации клеток может быть прямым и достаточным объяснением старения (данное положение можно сформулировать как «теломерная теория старения»). Тем не менее выводы, следующие из этой теории, оказались в противоречии с различными фактами, например:

i) У хомяков и мышей теломеры обладают большей длиной по сравнению с человеком, но при этом продолжительность их жизни намного короче [6]. При сравнении различных видов не было обнаружено соответствия между продолжительностью жизни и длиной теломеры [7]. Более того, в различных экспериментах было продемонстрировано аналогичное отсутствие соответствия у индивидов одного вида, но с различной длиной теломеры в первых зародышевых клетках (например, между донором и клонированным животным [8, 9]; другие примеры и более подробные обсуждения см. в работе [10], стр. 59–61).

ii) Elizabeth Blackburn обнаружила [11], что в синхронно делящихся культурах клеток клеточное старение достигается не после определенного числа дупликаций, а уже с первых дупликаций наблюдается прогрессивно возрастающая вероятность активации процесса клеточного старения [12, 13]. Таким образом, запуск программы клеточного старения инициируется не при достижении теломерой определенной критической длины – существует лишь вероятностная связь между активацией клеточного старения и уменьшением длины теломеры.

Указанные несоответствия теломерной теории, которая на самом деле представляет собой чрезмерно и неприемлемо упрощенное видение клеточного старения, могут быть устранены путем инкорпорирования в нее влияния укорочения теломеры на субтеломеру [10], что было сформулировано как «субтеломерно-теломерная теория» [1–3]. Эту теорию мы вкратце обсудим ниже со ссылкой на оригинальные работы, содержащие большую часть свидетельств в пользу этой теории:

1) теломеры представляют собой концевые участки молекул хромосомной ДНК, и, следовательно, число теломер в два раза превышает число таких молекул, поскольку каждая хромосома имеет два конца. В половых клетках длина каждой теломеры варьирует, и этот признак наследуется [14–16];

2) в первой клетке организма каждая теломера должна быть покрыта гетерохроматиновым капюшоном или кэпом (англ. «cap»), который соответствует длине теломеры (предположение);

3) длина кэпа при каждой последующей дупликации не изменяется (предположение), даже если при каждой дупликации происходит укорочение теломеры, обусловленное механизмом работы ДНК-полимеразы (если укорочение не полностью компенсируется теломеразой – ферментом, активность которого зависит от типа клетки);

4) в случае укорочения теломеры кэп, который, согласно предположению, имеет фиксированную длину, скользит по участку молекулы ДНК, прилегающему к теломере, называемому «субтеломера R» («R» означает регуляторный) [2], который содержит последовательности TERRA, кодирующие первичные регуляторные последовательности РНК (транскрипты TERRA), а не белки. Известны два типа последовательностей TERRA (TelBam3.4 и TelSau2.0) [17, 18], однако не исключено, что существуют и другие типы таких последовательностей;

5) последовательности TERRA характерны для эукариотических клеток и эволюционно консервативны [19];

6) последовательности TERRA могут быть охарактеризованы как «регуляторные последовательности первого уровня», а регулируемые ими последовательности — как «регуляторные последовательности второго уровня», поскольку транскрипты TERRA оказывают три типа регуляторных эффектов, включающих: (а) воздействие (повышение экспрессии) на участок молекулы ДНК, прилегающий к субтеломере R, названный «субтеломера A» («A» — амплификатор) [2], на той же теломере и других, содержащих регуляторные последовательности второго уровня, способствующих усилению и амплификации эффектов TERRA-транскриптов; б) воздействие (повышение или понижение уровня экспрессии) других регуляторных последовательностей второго уровня и локализованных на других (не субтеломерных участках) как на той же самой молекуле ДНК, так и на других молекулах ДНК в клетке; в) регуляторное влияние системы защиты теломеры с использованием кэпа. Были получены экспериментальные данные, подтверждающие, что: i) «TERRA связывается с мишенями на хроматине по всему геному ...TERRA связывается с теломерами как в *cis*-, так и в *trans*-положении в последовательностях генов или вблизи них» [20]; ii) продемонстрированы «...значительные изменения уровня экспрессии мишеней TERRA относительно участков, не являющихся мишенями, после деплеции TERRA...», что указывает на то, что гены-мишени TERRA с большей вероятностью страдают от деплеции TERRA... Интересно, что экспрессия субтеломерных генов-мишеней всегда снижалась...Экспрессия внутренних генов-мишеней может при этом как повышаться, так и понижаться...» [20]; iii) «TERRA связывается со многими локусами, расположенными вне теломер, в которых некодирующие последовательности ДНК, по-видимому, играют важную регуляторную роль, связанную с генной экспрессией [19–21]»; iv) «Подавляющее боль-

шинство сайтов связывания последовательностей TERRA было обнаружено за пределами теломерных участков в основном в отдаленных межгенных и интронных участках генома, где эти последовательности регулируют экспрессию генов. При этом важно то, что деплеция транскриптов TERRA в эмбриональных стволовых клетках (ЭСК, ESC — embryonic stem cells) также была ассоциирована со снижением уровня защиты теломер, указывая на то, что TERRA все же необходимы для целостности теломер мыши...» [19]; v) деплеция транскриптов TERRA, по-видимому, ассоциирована со снижением защиты теломер [20, 21];

7) вероятно, существует огромное множество регуляторных последовательностей второго уровня («В геноме эмбриональных стволовых клеток мыши мы идентифицировали тысячи *cis* и *trans* хроматин-связывающих сайтов» [20]), которые влияют на функционирование огромного числа генов и других предположительных регуляторных последовательностей;

8) в связи с нарастающей степенью репрессии последовательностей TERRA происходит постепенное изменение клеточных функций, которое определяется как «постепенное клеточное старение» [2], снижение уровня защиты теломер и повышение риска запуска процесса клеточного старения, «фундаментальной клеточной программы» [22], которая характеризуется стереотипными модификациями (изменение клеточных функций в высшей степени, т.е. постепенное клеточное старение, секреторный фенотип, ассоциированный с клеточным старением (SASP — senescence-associated secretory phenotype), повышающий риск возникновения онкологических заболеваний [23], блокирование способности к репликации, иначе — репликативное клеточное старение [22, 24], устойчивость к апоптозу [25, 26]). Усиливающееся подавление транскрипции последовательностей TERRA обуславливает увеличение доли клеток, находящихся в состоянии: 1) постепенного клеточного старения или 2) клеточного старения, т.е. изменения клеточных функций, включая SASP. Накопление этих двух типов клеток с измененными функциями и снижающееся число пролиферирующих клеток в процессе клеточного старения приводит к усилению изменений во всех органах и тканях, определяемое как «синдром атрофии», и далее — к снижению уровня физического состояния (формы), т.е. к старению [3];

9) в итоге первоначальные наблюдения Blackburn были ею подтверждены в соответствии с функциями, которые в дальнейшем были приписаны последовательностям TERRA (см. выше), что приводило к следующим поло-

жениям: 1) теломера слабо ассоциирована с кэ-пом и может находиться в двух состояниях («колебаться» между ними), закрытом и открытом («capped» и «uncapped»); 2) в открытом состоянии она подвергается активации блокирования способности к репликации (т.е. клеточному старению); 3) по мере укорочения теломеры доля открытого состояния увеличивается. Поэтому клетки, вероятно, существуют в двух состояниях: клетки, которые проходят клеточный цикл (cycling cells) и клетки, вышедшие из клеточного цикла. С самого начала пассирования отдельные клетки случайным образом выпадают из популяции клеток, проходящих клеточный цикл. Частота выпадения из клеточного цикла постоянно увеличивается до тех пор, пока популяция как целое не перестанет удваиваться ... полагают, что даже в начале пассирования теломеры, хотя и относительно длинные, имеют конечную (хотя исходно низкую) вероятность декэпирования... декэпированная теломера подает сигнал клетке выйти из клеточного цикла... случайная и увеличивающаяся вероятность переключения в декэпированное состояние и перехода клетки в состояние вне клеточного цикла. Такие положения могли бы объяснить ряд наблюдений. В культурах клеток человека две митотические сестринские клетки могут обладать сильно различающимися возможностями пролиферации [13], даже если они имеют сходные по длине теломеры... у нокаутированных по теломеразе мышей слияние теломер и влияние недостатка теломеразы возрастают неуклонно по частоте и тяжести с увеличением числа последующих поколений, а не проявляются внезапно только в поздних поколениях... У дрожжей клеточное старение также стохастично и прогрессирует в клеточной популяции... новая модель избавляет от необходимости в определении «критической» длины теломеры» [11].

Указанные положения представлены в кратком виде на рис. 1.

Что касается длительноживущих клеток, то ухудшение их состояния объясняется сокращением числа сателлитных клеток, что обсуждается в других работах [27].

В настоящей работе мы попытались проверить, противоречат ли имеющиеся экспериментальные данные субтеломерно-теломерной теории (или хотя бы являются совместимыми с ней) или же, напротив, они её подтверждают.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК ПРИ СТАРЕНИИ

Эпигенетические модификации ДНК непосредственным образом связаны с возрастом ор-

ганизма. В частности, метилирование ДНК (метилирование остатка цитозина по 5-му положению в динуклеотиде CpG) является предметом растущего числа исследований, показывающих, среди прочего, что в эмбриональных и индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (иПСК, iPSCs – induced pluripotent stem cells) оно близко к нулю и коррелирует с числом пассажей клеток [28, 29]. Эпигенетические характеристики ДНК различаются в зависимости от типа клеток и тканей [30, 31], аналогичные вариации наблюдаются в случае возрастных изменений [32, 33].

Метилирование ДНК, связанное с возрастом, в отдельных случаях представляет собой гиперметилирование, а в других – гипометилирование [32, 34–36].

Помимо эпигенетических вариаций, связанных с типом клеток и тканей, полом и наличием заболеваний, существуют последовательности CpG, для которых также характерны возрастные изменения профиля метилирования ДНК [35–40].

Для генома человека были предложены индикаторы, предсказывающие возраст с использованием только этих типов метилирования ДНК [28, 40, 41]. Самым надежным оказался индикатор, предложенный Horvath, который демонстрирует корреляцию с возрастом, равную 0,96, и ошибку, равную 3,6 года [28]. Существование сходных эпигенетических модификаций было продемонстрировано и для млекопитающих в целом в работе на 59 типах тканей, принадлежащих 128 видам из 15 филогенетических родов (с максимальной продолжительностью жизни от 3,8 до 211 лет и весом взрослых особей от 0,004 до 100 кг). Были смоделированы эпигенетические часы «с превосходной точностью ($r > 0,96$)» и со «средней относительной ошибкой менее 3,5%» [29].

Помимо метилирования ДНК, существуют и другие возрастные эпигенетические изменения, которые включают снижение уровня ремоделинга гетерохроматина, нуклеосом, изменение гистоновых меток [42, 43], метилирование гистонов [44, 45], «снижение общего уровня основных гистонов, изменение паттерна посттрансляционной модификации гистонов..., замену канонических гистонов на их различные модификации, а также изменение уровня экспрессии некодирующих РНК» [46]. Тем не менее надежных индексов для предсказания возраста на основе таких эпигенетических модификаций, подобных индексам, описанным для метилирования ДНК, предложено не было [28, 29].

Эти данные легли в основу концепции, заключающейся в том, что на клеточном уровне старение представляет собой эпигенетическое

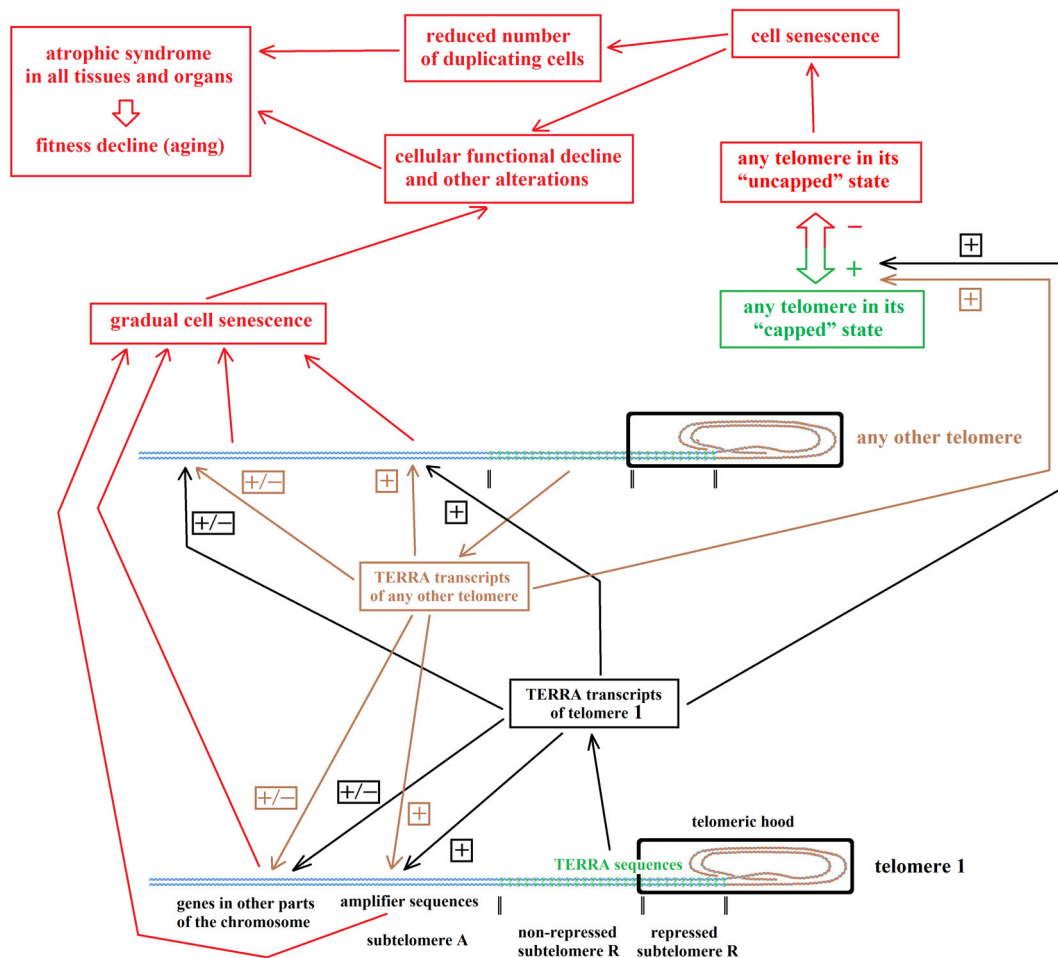


Рис. 1. Транскрипция последовательностей TERRA в субтеломере R приводит к появлению транскриптов TERRA, которые вызывают повышение или понижение уровня экспрессии других регуляторных последовательностей в субтеломере A или других участках, расположенных на той же самой хромосоме или на других хромосомах. Скольжение теломерного гетерохроматинового ээпа вызывает прогрессирующее подавление субтеломеры R. В то же время происходит укорочение теломеры. Снижение уровня транскрипции последовательностей TERRA определяет постепенное клеточное старение и увеличивающуюся вероятность клеточной сенесцентности. В тканях и органах это приводит к снижению средней функциональности клеток и числа делящихся клеток, вызывая ухудшение физического состояния всего организма, т.е. старение; [+] и [-] означают повышение и понижение экспрессии соответственно, в отношении других последовательностей или состояния теломеры; черным цветом показано действие последовательностей TERRA или транскриптов на другие последовательности на той же молекуле ДНК (обозначенной как теломера 1); коричневым цветом показано действие транскриптов TERRA на последовательности любой другой молекулы ДНК; красным цветом показано действие в контексте сложных механизмов, приводящих к ухудшению физического состояния организма; нетеломерная ДНК, теломерная ДНК и петля концевой участка теломеры на графике различаются по дизайну и цвету без каких-либо дополнительных уточнений

явление (например, [47]), приводящей к положению о том, что старение всего организма также зависит от клеточных эпигенетических модификаций. Тем не менее, несмотря на то что эта идея основана на хорошо документированных данных, это не обязательно означает, что эпигенетические изменения являются первичными и не имеют отношения к другим механизмам. Во-первых, следует отметить, что эпигенетические изменения ограничиваются специфическими участками ДНК. Метилирование ДНК: — затрагивает те участки ДНК, в последовательности которых часто встречается динуклео-

тид CpG (примерно 1 раз на 10 пар оснований (п.о.); эти участки были названы CpG-островками или CGIs), при том что эти структуры составляют только 2% от всей последовательности ДНК [31]. CpG-островки часто соответствуют сайтам инициации транскрипции генов [48]. Метилирование CpG-островков коррелирует с сайленсингом любых промоторов, присутствующих в них [49], в то время как их деметилирование приводит к восстановлению функционирования промотора [50];

— происходит в конкретных точках, которые настолько эволюционно консервативны, что

позволяют определить надежный индекс, который работает для всех млекопитающих [29];

– обратимо за счет трансформации зрелых соматических клеток в iPСК. При определении возраста на основе профиля метилирования ДНК (DNAm age) в ЭСК и в iPСК эти значения оказываются близки к нулевым [28];

– число предыдущих дупликаций клеток коррелирует со значениями метилирования ДНК [28].

Эти данные не соответствуют теории о случайных изменениях и означают, что существуют точные генетически предопределенные, регулируемые и эволюционно консервативные механизмы, опосредующие такие модификации. Как следствие, возрастные эпигенетические модификации не выступают в качестве основного фактора, определяющего старение, напротив, они могут быть фундаментальной частью более общего механизма, который определяет и регулирует процесс старения. Эта концепция была прямо заявлена в следующем виде: «Старение часто воспринимается как дегенеративный процесс, вызванный случайным накоплением повреждений клеток с течением времени. Несмотря на это, возраст может быть точно определен с помощью эпигенетических часов, основанных на профилях метилирования ДНК, полученных почти из любой ткани организма. Поскольку работа таких эпигенетических часов в различных тканях была продемонстрирована для нескольких биологических видов, трудно игнорировать высокую вероятность того, что в основе процесса старения лежит определенный общий механизм» [29].

Давайте оценим, насколько эпигенетические модификации совместимы с механизмами, предлагаемыми субтеломерно-теломерной теорией:

– «CpG-богатые островки ДНК, характерные для многих концов хромосом человека, способствуют транскрипции молекул TERRA» [18];

– «Уровень метилирования субтеломерной ДНК...понижается пропорционально укорочению теломеры у мышей *Terc^{-/-}*» [51];

– «У здоровых людей из контрольной группы, а также у больных саркоидозом было показано снижение доли длинных теломер (> 9,4 тыс. п.о.) и увеличение доли коротких теломер (< 4,4 тыс. п.о.) при старении, что сопровождалось относительным увеличением доли длинных теломер с гиперметилированием субтеломеры и коротких теломер с гипометилированием субтеломеры. Это дает основание полагать, что возрастное укорочение теломеры связано с гипометилированием её субтеломеры» [52];

– у мышей также показана связь между укорочением теломеры и метилированием субтеломерной ДНК [53]. «Кроме того, отсутствие функционирования основных эпигенетических регуляторов, таких как метилтрансферазы гистоновых белков и ДНК-метилтрансферазы, коррелирует с утратой контроля над длиной теломеры и ее укорочением до критических значений, что оказывает влияние на эпигенетический статус теломер и субтеломер» [53];

– в лейкоцитах человека «...более короткие теломеры ассоциированы с пониженным уровнем метилирования множественных сайтов цитозина, локализованных на расстоянии до 4 млн п.о. от теломеры...значительное концентрирование положительно ассоциированных метилированных сайтов CpG в субтеломерных локусах (до 4 млн п.о. вблизи теломеры) ($p < 0,01$)» [54]. Более короткие теломеры влияют на экспрессию генов, и с ними ассоциирован повышенный риск возникновения возрастных заболеваний [54].

Описанные выше результаты свидетельствуют о том, что происходит повышение или понижение экспрессии регуляторных последовательностей первого уровня (последовательности TERRA, чьими промоторами являются последовательности CpG) и регуляторных последовательностей второго уровня (расположенных вблизи теломер и других участков ДНК) с участием эпигенетических механизмов, таких как метилирование и деметилирование. При этом указанные данные не дают информации о том, как происходит повышение или понижение уровня экспрессии возможных регуляторных последовательностей третьего или высших уровней, даже если они действительно могут находиться под действием схожих эпигенетических механизмов. В дополнение к этим пробелам, которые обязательно должны быть охвачены соответствующими исследованиями, не существует также данных о том, что последовательности, контролируемые последовательностями TERRA через многоуровневые регуляторные механизмы, совпадают с теми, которые обсуждались выше, чей эпигенетический статус изменяется с возрастом.

Важным моментом может стать исследование сенесцентных клеток, в которых ожидается максимальная репрессия последовательностей TERRA.

В одной работе было показано, что в случае мезенхимальных стволовых клеток (МСК, MSCs – mesenchymal stem cells) клеточное старение ассоциировано с метилированием ДНК в специфических CpG-сайтах, а также с гистоновыми маркерами старения, такими как тримети-

лирование специфических мишеней [55], и что «экспансия [наращивание, размножение] МСК оказывает определенное влияние на профили метилирования ДНК»; «в 517 сайтах CpG было продемонстрировано дифференциальное метилирование при сравнении ранних и поздних пассажей»; «Было показано, что картина метилирования ДНК ассоциирована с определенными модификациями гистонов — в особенности с метилированием гистона H3» [55].

В стареющих МСК было продемонстрировано как гипометилирование, так и гиперметилирование: «В почти трети CpG-сайтов были выявлены возрастные изменения профиля метилирования ДНК, из которых при старении 60% сайтов становятся гипометилированными и 40% — гиперметилированными» [56].

Все эти данные, несмотря на существующие пробелы, которые необходимо заполнить, указывают на то, что метилирование ДНК и в целом возрастные эпигенетические модификации находятся в тесной корреляции с механизмами репрессии последовательностей TERRA и опосредованы работой системы, состоящей из субтеломеры, теломеры, теломерного кэпа, теломеразы, других регуляторных последовательностей и соответствующих регуляторных белков. Таким образом, представленные выше экспериментальные данные, касающиеся метилирования ДНК и других возрастных эпигенетических изменений, вероятно, подтверждают или, по крайней мере, соответствуют положениям субтеломерно-теломерной теории. Следовательно, правомерным было бы утверждение о том, что клеточное старение представляет собой эпигенетический феномен с дополнением, что этот феномен, вероятно, регулируется системой субтеломеры—теломеры.

СТАРЕНИЕ, ОКИСЛЕНИЕ И ВОСПАЛЕНИЕ

Многочисленные статьи подчеркивают корреляцию между старением и накоплением веществ, вызывающих окисление (свободные радикалы [57], активные формы кислорода и азота [58, 59]), или молекул, окисленных/поврежденных такими веществами (окисленные белки [60], поврежденные или укороченные теломеры [61]), или хроническим состоянием воспаления и изменения работы иммунной системы, получившим название инфламейджинг (inflammaging) [62].

Обнаружение этих корреляций дало начало различным теориям, в которых отмеченные выше вещества или их эффекты были рассмотрены в качестве основной причины старения (напри-

мер, окислительное влияние свободных радикалов и активных форм кислорода на весь организм [63, 64], митохондрии [65, 66] или ДНК [67, 68]; инфламейджинг и возрастные изменения иммунной системы [69, 70]).

Эти теории непрограммированного старения основываются на положении, что старение является последствием кумулятивного действия этих веществ и в неявном виде исключает идею о том, что оно возникает в результате действия других механизмов, а накопление указанных выше веществ и производимые ими эффекты являются вторичными.

Субтеломерно-теломерная теория старения подразумевает прямо противоположное: что механизмы, сосредоточенные в системе теломера—субтеломера—теломеразы, являются первопричиной всех перечисленных выше изменений.

Помимо других аргументов и эмпирических доказательств, направленных против теорий непрограммированного старения, которые обсуждались в работе [71] и не являются предметом обсуждения в настоящей статье, о том, что указанные выше изменения являются вторичными, а не первичными, мы имеем несколько важных свидетельств:

— перенос ядра из дифференцированной клетки в лишенный ядра неоплодотворенный ооцит приводит к образованию недифференцированной яйцеклетки, из которой можно получить новый индивид, который представляет собой клон донора дифференцированной клетки [72];

— слияние эмбриональных стволовых клеток человека с соматическими клетками (фибробласты человека) приводит к образованию гибридных тетраплоидных клеток с характеристиками эмбриональных стволовых клеток: «Анализ транскрипционной активности на уровне генома, активации репортерных генов, экспрессии специфических аллелей генов и метилирования ДНК показал, что соматический геном был репрограммирован в эмбриональное состояние» [73];

— трансформация (репрограммирование) фибробластов взрослого организма в иПСК путем действия четырех факторов (Oct3/4, c-Myc, Sox2 и Klf4) приводит к восстановлению способности к росту и экспрессии генов-маркеров эмбриональных стволовых клеток [74].

Эти явления указывают на то, что указанные выше изменения не являются неизбежным следствием функционирования биохимических механизмов или результатом случайного и необратимого накопления различных видов повреждений с акцентом на вызванные воздействием активных форм кислорода. Напротив, похоже, что они являются результатом четких, генети-

чески предопределенных и подверженных регуляции механизмов, которые могут быть обращены в результате соответствующих генетических манипуляций. Более того, баланс между окислительным и восстановительным потенциалом внутри клеток и тканей, по-видимому, тщательно регулируется и, в свою очередь, эмиссия окислительных агентов является частью сигнальной системы, действующей как эффектор как в клетках, так и в организме в целом, и отвечающей на внутренние или внешние регуляторные стимулы [75, 76]. Все эти утверждения полностью соответствуют положениям субтеломерно-теломерной теории.

ЗАЩИТА ТЕЛОМЕРЫ

Субтеломерно-теломерная теория утверждает, что защита теломеры, т.е. ограничение риска того, что незащищенная теломера может активировать процесс клеточного старения, зависит от системы субтеломеры–теломеры, в частности, от активности последовательностей TERRA:

– в эмбриональных стволовых клетках мыши снижение числа транскриптов TERRA коррелирует со снижением уровня защиты теломеры [20, 21]. Снижение уровня TERRA ассоциировано с «дефектами кэпирования теломеры. С помощью теломера-специфичных проб анализ ДНК в метафазных пластинках методом FISH продемонстрировал нарушение целостности теломеры спустя 24 ч нокдауна TERRA...» [20];

– транскрипты TERRA противодействуют белку ATRX (alpha thalassemia mental retardation X-related syndrome) и защищают теломеры. «У TERRA и ATRX сотни общих генов-мишеней, в этих локусах они работают как антагонисты: если TERRA активирует, то ATRX подавляет экспрессию соответствующего гена. В теломерах TERRA конкурирует с теломерной ДНК за связывание белка ATRX, подавляет скопление ATRX и обеспечивает стабильность теломеры» [20];

– снижение уровня транскрипции последовательностей TERRA с помощью различных методик инициирует активацию ответа на повреждение ДНК на участках теломер [77];

– делеция локуса 20q вызывает резкое снижение уровня TERRA и индуцирует усиленный ответ на повреждения ДНК. Этот факт был интерпретирован как «демонстрация важной роли TERRA в стабилизации теломер в любом организме» [78].

Таким образом, различные работы демонстрируют наличие корреляции между актив-

ностью экспрессии последовательностей TERRA и защитой теломеры, т.е. с ограничением вероятности активации программы клеточного старения. Тем не менее подробности того, как транскрипты TERRA обеспечивают такую защиту, объяснены лишь частично. И все же положение субтеломерно-теломерной теории о связи между укорочением теломеры, снижением уровня экспрессии TERRA и уровнем защиты теломеры в общих чертах было подтверждено экспериментальными данными.

ТЕЛОМЕРНЫЙ ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫЙ КЭП

Согласно субтеломерно-теломерной теории требуется, чтобы в период жизни клетки, который можно определить как «фаза перезагрузки (reset phase)» [79], в первой клетке живого организма (или даже в случае трансформации соматических клеток в иПСК) каждая теломера должна быть укрыта гетерохроматиновым кэпом, по размеру пропорциональным исходной длине теломеры. Эта длина различается от вида к виду, от хромосомы к хромосоме и даже между двумя плечами хромосомы («...значения длины теломеры внутри одной клетки различны, и конкретные плечи хромосомы обычно имеют или короткую, или длинную теломеру» [14]). В результате множества последующих дупликаций половой клетки и образующихся из нее клеток, когда происходит укорачивание теломеры до величины, определяемой уровнем репрессии активности теломеразы, кэп не адаптируется к новой длине теломеры, а вместо этого сохраняет свою длину и оказывает репрессирующее действие на субтеломерный участок.

Согласно теории, необходимо существование теломерного кэпа с определенным молекулярным составом, обуславливающим специфические молекулярные механизмы:

– в фазе перезагрузки – для адаптации длины кэпа относительно длины теломеры;

– при каждой дупликации клетки для воспроизводства кэпа определенного размера без учета сокращения длины теломеры;

– при укорочении теломеры при каждой дупликации для регуляции степени активации теломеразного комплекса, координирующей длину восстановления теломеры.

В основном эти фундаментальные вопросы субтеломерно-теломерной теории либо не имеют ответа, либо он неоднозначен. Тем не менее известны некоторые важные моменты:

– теломера покрыта несколькими копиями шелтеринового белкового комплекса с четко оп-

ределенными основными компонентам (белки TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 и POT1 [80, 81]), а также их расположением [80];

– гетерохроматиновый кэп может быть образован цепью шелтериновых комплексов, связанных друг с другом за счет биохимической связи между белком POT1 из одного комплекса и белков TRF1 и TIN2 из последующего комплекса, как показано на рис. 2;

– в случае, если кэп состоит из одной цепи шелтеринового комплекса и имеет фиксированный размер, который не изменяется при каждой дупликации даже при укорочении теломеры, то общее количество шелтериновых белков не должно изменяться, начиная от зародышевых клеток вплоть до клеток с укороченными теломерами. Напротив, если размер кэпа пропорционален длине теломеры, общее количество шелтериновых белков должно снижаться по мере укорочения теломеры. Было исследовано количество шелтериновых белков в клетках с теломерами различной длины и получены интересные результаты: «Чтобы определить число и стехиометрию белков шелтеринового комплекса в белковой фракции хроматина клеток человека мы использовали метод количественного иммуноблоттинга. Количество шелтериновых компонентов было сходным в первичных и трансформированных клетках и не коррелировало с длиной теломеры» [82]. Эти данные позднее были подтверждены и в других работах: «Определение уровня белков шелтерина показывает, что размер этого комплекса не изменяется соответственно длине теломеры» [82, 83]. В той же работе показано, что белок TZAP удаляет избыточные участки теломеры в случае «низкой концентрации шелтеринового комплекса», т.е. низкого соотношения количества шелтериновых комплексов к длине теломеры и, как подчеркивают авторы, это означает наличие постоянного числа шелтериновых комплексов [83]. Эти данные свидетельствуют в пользу контролирования определенной длины теломеры, как правило, ограниченной фиксированным размером кэпа.

Что касается теломерного кэпа, то эти данные, по-видимому, свидетельствуют в пользу субтеломерно-теломерной теории, однако они

ограничены и недостаточны. Тем не менее необходимо учитывать, что для любой альтернативной теории существует еще меньше доказательств и больше вопросов без ответа. Действительно, если не рассматривать механизм старения в контексте существования теломерных кэпов с фиксированной длиной, то нужен будет альтернативный механизм объяснения того, каким образом различия в длине теломер сохраняются после каждого деления клеток [15]. Необходимо будет также объяснить наследуемость длины теломеры от родителей (например, высокое ее сходство у монозиготных близнецов и отсутствие такового у dizиготных [15, 16]).

Вне контекста субтеломерно-теломерной теории для зародышевых клеток был бы необходим гипотетический регистр с записями обо всех длинах теломер. Более того:

i) в клетках с активной теломеразой для каждой теломеры должен существовать конкретный механизм компенсации ее длины, использующий информацию, содержащуюся в гипотетическом регистре для определения того, до какой степени необходимо удлинить теломеру, чтобы восстановить её первоначальную длину. Кроме того, в случае излишнего удлинения теломеры теломеразой другой механизм должен с использованием этой информации из регистра привести к удалению излишнего материала;

ii) в клетках со сниженной активностью теломеразы аналогичный механизм с использованием информации об исходной длине теломеры, содержащейся в гипотетическом регистре, должен способствовать частичному восстановлению исходной длины пропорционально степени активности теломеразы;

iii) должны существовать различные механизмы, которые будут сравнивать начальную длину с длиной, записанной в гипотетическом регистре с учетом позиционирования теломеры, и рассчитывать вероятность запуска процесса клеточного старения пропорционально укорочению теломеры относительно начальной длины.

При этом такой регистр кажется очень громоздким и сложным, и нет никаких доказательств его существования. Концепция этого регистра может быть заменена на концепцию, со-

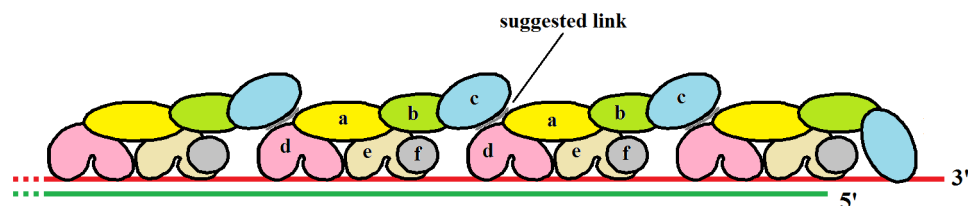


Рис. 2. Возможная структура цепи комплексов шелтерина. a–f – TIN2, TPP1, POT1, TRF1, TRF2 и RAP1 соответственно

гласно которой теломерные кэпы обладают определенной длиной в первой клетке организма, и их размер остается фиксированным при всех последующих дупликациях клеток. Таким образом, теломерные кэпы могут функционировать как «регистры», специфичные для каждой теломеры и опосредующие механизм реализации пунктов i), ii) и iii) (т.е. положения субтеломерно-теломерной теории). Таким образом, мы получаем достаточно реалистичную картину, хотя и с некоторыми неясными моментами, которые еще предстоит экспериментально прояснить.

Вкратце, гипотеза, предложенная субтеломерно-теломерной теорией касательно определённой длины теломерного кэпа, которая не меняется при дупликациях клеток, а также все явления, связанные с этой гипотезой, похоже, не имеют альтернативы, которая была бы достаточно правдоподобной и подтверждалась эмпирическими доказательствами.

Например, в качестве альтернативной или частично альтернативной гипотезы может быть предложена ситуация, когда сдвиг баланса между количеством белков шелтеринового комплекса и доступными теломерами или субтеломерными участками в случае чрезмерного укорочения теломеры может напрямую влиять на регуляцию дистальных участков генома, включая последовательности, расположенные далеко от концов хромосом [84], без усиления репрессии TERRA. Такие процессы могут быть основаны на связывании компонентов шелтеринового комплекса с последовательностями на неконцевых участках хромосом, имеющими меньшее сходство по сравнению с теломерами [85]. Такие участки могут включать интерстициальные теломерные повторы и элементы регуляции, также содержащие теломерные повторы и поэтому доступные для связывания, хотя с меньшим сродством, чем теломеры [86]. Такие взаимодействия должны обуславливать совместное функционирование системы субтеломеры–теломеры с другими глобальными регуляторами генома, побуждая их действовать согласованно на всем протяжении сложного процесса развития и особенно при регуляции процесса старения. Однако это предположение не объясняет схожее количество шелтериновых белков в первичных и трансформированных клетках, «не коррелирующее с длиной теломеры» [82].

ПРОГРЕССИРУЮЩЕЕ КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ

Согласно субтеломерно-теломерной теории, по мере укорочения теломеры происходит про-

грессирующее репрессирование субтеломер, т.е. репрессия последовательностей TERRA ассоциирована с последовательным изменением клеточных функций. Эти изменения, охарактеризованные как «прогрессирующее [постепенное] старение клеток» [71], нужно отличать от активации процесса клеточного старения в контексте «фундаментальной клеточной программы» [22], которая инициирует общие стереотипные изменения функций клеток [87], или своего рода прогрессирующее до высшей степени клеточное старение, ассоциированное с репликативным клеточным старением и устойчивостью к апоптозу.

И хотя всегда необходимо учитывать возможность того, что при изучении клеточных культур старение части клеток может симулировать состояние частичного старения всех клеток, тем не менее в поддержку этого предположения имеются некоторые свидетельства постепенного клеточного старения как состояния, отличающегося от классического клеточного старения:

– У дрожжей, одноклеточных организмов, в которых теломераза всегда активна, и поэтому теломеры обладают постоянной длиной [88], клетка делится на две, из которых первая клетка определяется как «мать», в которой к субтеломере добавляются специфические внехромосомные кольцевые рибосомные ДНК (ERCs – *extra-chromosomal ribosomal DNA circles*), в то время как во второй клетке, определяемой как «дочь», эти внехромосомные элементы отсутствуют. Вследствие накопления ERCs клетки материнской линии с увеличением числа дупликаций демонстрируют наращивание функциональных изменений и подверженность клеточному старению, которое приводит к апоптозу дрожжевых клеток [89, 90]. Более того, в мутантных штаммах с неактивной теломеразой (мутанты *tlc1Δ*) укорочение теломер происходит при каждой дупликации и в клетках дочерней линии, в которых не происходит накопления ERCs; их транскриптом сходен с клетками материнской линии с равным количеством дупликаций [91]. Это явление в мутантных клетках может быть следствием соскальзывания теломерного кэпа на субтеломеру и ее последующего репрессирования, в то время как в клетках материнской линии дикого типа репрессия субтеломеры вызвана накоплением ERCs [10, 92]. У дрожжей ввиду того, что клеточное старение вызывает апоптоз и гибель индивида, угасание клеточных функций (постепенное старение клетки) нельзя спутать с клеточным старением/сенесцентностью.

– «По мере укорочения теломеры кэп скользит вниз по хромосоме (размер гетерохромати-

нового кэпа постоянен, и кэп просто сдвигается с укорачивающимся концом)... в результате происходит изменение транскрипции на участках хромосомы, непосредственно прилегающих к теломерному комплексу, что обычно приводит к сайленсингу транскрипции... Эти подвергшиеся сайленсингу гены могут в свою очередь модулировать другие, находящиеся на удалении гены (или комплекс генов). Существует несколько прямых доказательств такой модуляции в последовательностях субтеломеры... но в целом, в то время как экспериментальные данные свидетельствуют о существовании некоей неопределенной... но прямой причинно-следственной связи между укорочением теломеры и изменением профиля экспрессии генов, механизмы этой связи остаются неясными и спорными...» [10].

– Мезенхимальные стволовые клетки демонстрируют постоянные изменения профиля метилирования ДНК (гипометилирование или гиперметилирование) в процессе последовательных пассажей, которые могут быть использованы в качестве надежных маркеров количества пассажей клеточной культуры *in vitro* [93–95]; «Определение профиля экспрессии мРНК выявило последовательную картину изменений глобальной экспрессии генов в МСК при пассировании. Эти изменения не ограничены более поздними пассажами, они возникают постоянно с увеличением числа пассажей» [96].

– МСК демонстрируют некоторые «дефекты», ассоциированные с числом предшествующих дупликаций, которые могут быть устранены путем их репрограммирования в iPСК [97]. Затем из iPСК можно получить функциональные МСК, называемые индуцированными МСК (иМСК, iMSCs – induced MSCs), с незначительными эпигенетическими изменениями и повышенной выживаемостью клеток [98]. «В сравнении со взрослыми МСК и независимо от возраста донора или источника клеток, иМСК демонстрируют омоложенный профиль [97]. При этом метилирование ДНК, ассоциированное с возрастом, полностью «стирается», и в процессе культивирования *in vitro* иМСК вновь приобретают ассоциированную с клеточным старением картину метилирования ДНК» [56]. Цитированные выше работы свидетельствуют о том, что с помощью соответствующих манипуляций можно достигать переключения между различными клеточными состояниями с разной степенью клеточного старения. Это подтверждает, что клеточное старение: 1) не является следствием неизбежных и необратимых повреждений и представляет собой обратимое и изменяемое эпигенетическое состояние; 2) яв-

ляется постепенным процессом, по крайней мере, до того момента, когда запускается процесс перехода в необратимое состояние, именуемое клеточной сенесцентностью.

– При изучении феномена, определенного как эффект позиционирования теломер (TPE-OLD – telomere position effect over long distance), было подчеркнуто, что: «Наши результаты свидетельствуют о том, что экспрессия части субтеломерных генов зависит от длины теломеры и что значительные изменения экспрессии генов индуцируются укорочением теломеры задолго до того, как теломеры становятся скоростью-лимитирующим фактором для деления клетки, или короткие теломеры иницируют передачу сигнала, вызванную повреждением ДНК. Эти изменения включают как повышение, так и понижение уровня экспрессии генов [99]», хотя авторы статьи интерпретируют эти данные как результат невозможности формирования теломерных петель на относительно далеко расположенных участках хромосомы при укорочении теломеры.

УКОРОЧЕНИЕ ТЕЛОМЕРЫ И УГАСАНИЕ ЖИВОГО ОРГАНИЗМА

В контексте субтеломерно-теломерной теории (как и теломерной теории) возможно сделать следующие выводы:

– активно дублирующиеся клетки организма должны демонстрировать сходное укорочение длин теломер, связанное с ритмами дупликации, и в пожилом организме теломеры должны быть критично короткими;

– клетки тканей с более высокими скоростями дупликации должны демонстрировать критически укороченные теломеры и более выраженные признаки старения, в то время как для типов клеток с низкой скоростью дупликации укорочение теломеры и признаки клеточного старения должны быть намного более ограниченными;

– в долгоживущих клетках укорочение теломер будет нулевым, поэтому старение нельзя объяснить укорочением теломер.

Эти положения требуют некоторого обсуждения.

В обзоре, посвященном снижению длины теломеры с возрастом, исследуемой в образцах от новорожденных до долгожителей, было показано ежегодное сокращение длины теломер во многих типах клеток, кроме клеток с минимальным обновлением или вообще без него. При этом лишь в некоторых типах клеток снижение длины теломер можно было назвать кри-

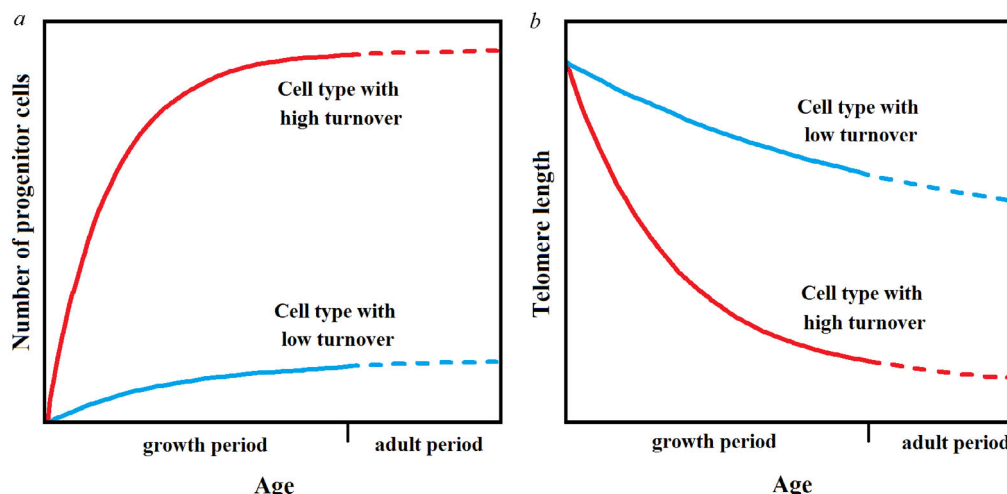


Рис. 3. *a* – Предшественники клеток с высокой скоростью обновления (например, гемопоэтические клетки) в период роста демонстрируют активную экспансию, в то время как предшественники клеток с медленным обновлением (например, клетки скелетных мышц) демонстрируют скромный прирост. *b* – В период роста укорочение теломер пропорционально величине экспансии, в то время как в последующие периоды жизни скорость укорочения теломер обоих типов клеток становится равной (на основе рис. 4 из работы [101])

тичным (например, в клетках печени скорость укорочения составила 120 п.о./год; длина теломеры $1,7 \pm 2,5$ тыс. п.о. у новорожденных и $8,7 \pm 1,4$ – у долгожителей) [100]. Кроме того, помимо клеток с незначительным снижением длины теломеры (кора головного мозга и сердечная мышца), годовая скорость укорочения теломер была значительно ниже и демонстрировала значения в диапазоне 20–60 п.о. в год [100]. Данные, объясняющие (приблизительную) однородность процесса старения всего организма, также отсутствуют. Более того, механизм старения долгоживущих клеток также требует объяснения.

При изучении четырех типов клеток/тканей с сильно различающимися скоростями обновления клеток (лейкоциты, скелетные мышцы, подкожный жир и кожа) выяснилось, что скорости укорочения теломер сходны друг с другом [101].

В той же работе было показано, что несмотря на то что длины теломер в различных органах плода человека сходны [102], длина теломеры в гемопоэтических стволовых клетках была короче, чем в клетках соматических тканей с низким уровнем обновления. Исходя из этого, авторы сделали вывод, что стволовые клетки-предшественники различных типов клеток в период роста пролиферируют соответственно ритмам клеточного обновления (например, активное размножение клеток с высокой скоростью обновления, таких как гемопоэтические, и значительно менее активное – у клеток с медленным обновлением, как в случае скелетных мышц). В фазе активного размножения длина теломер

снижалась как функция степени экспансии, в то время как на более поздних – укорочение теломер происходило с постоянной скоростью [101] (рис. 3).

Давайте теперь посмотрим, как эти данные могут объяснить старение организма в контексте субтеломерно-теломерной теории:

i) укорочение теломеры приводит к общему снижению функционирования клетки (постепенное клеточное старение). В частности, для МСК, помимо того, что их экспансия ограничена числом возможных дупликаций относительно числа предыдущих дупликаций, она также инициирует постепенные эпигенетические изменения [55];

ii) учитывая полную или частичную неактивность теломеразы в клетках-предшественниках, стволовых и соматических клетках, всегда есть вероятность их перехода в состояние клеточной сенесцентности, т.е. блокировке репликативной способности [11]. Этот процесс постепенно снижает потенциал клеток к обновлению, в частности, за счет снижения числа стволовых клеток-предшественников;

iii) в тканях/органах увеличивающееся число клеток, находящихся в состоянии клеточной сенесцентности, и их аномальный секреторный фенотип (SASP) снижают общее функциональное состояние. Действительно, избирательная элиминация сенесцентных клеток является разумным и реалистичным средством снижения некоторых проявлений процесса старения [1];

iv) в случае многолетних или не обновляющихся клеток и структур (включая большинство нейронов центральной нервной системы, фото-

рецепторные клетки сетчатки и волокна хрусталика глаза) влияние ассоциированных со старением явлений (обсуждались в предыдущих пунктах) на незаменимые обновляющиеся сателлитные или трофические клетки (глиоциты различных типов, пигментные клетки сетчатки, клетки эпителия хрусталика) определяет их старение [27].

Эти явления приводят к состоянию, определяемому как «атрофический синдром», что является полностью совместимым с субтеломерно-теломерной теорией и представляет собой результат старения организма [3, 103].

ВЫВОДЫ

«Проекты Human Genome и ENCODE показали, что белок-кодирующий потенциал генома млекопитающих чрезвычайно ограничен... Хотя лишь 2% генома приходится на кодирующую часть, в итоге транскрибируется более > 90% генома. Эта транскрипционная активность в основном приводит к образованию длинных некодирующих РНК (lncRNA – long noncoding RNAs), чьи функции по большей части остаются неизвестными» [20].

У сильно отличающихся друг от друга видов число белок-кодирующих генов тем не менее сходно. «Научное сообщество было удивлено тому, что количество генов человека равно количеству генов у довольно простого организма – нематоды» [104]. Таким образом, огромные различия между видами, предположительно, в большей мере зависят от не кодирующих белки последовательностей. Транскрипция большей части генома, которая не кодирует белки, в основном приводит к формированию регуляторных элементов для других участков генома, например, для других сегментов с регуляторными функциями и белок-кодирующих участков, и эта регуляция в основном опо-

средована эпигенетическими модификациями [104].

Следовательно, можно считать общим правилом, что клеточные функции как для одиночной клетки любого одноклеточного или многоклеточного организма, так и в целом для многоклеточных организмов, касающиеся развития и организации индивида, являются эпигенетическими явлениями.

Из этого следует, что если в основе процесса старения лежат конкретные механизмы, то они будут эпигенетическими, что согласуется с результатами экспериментальных исследований и положениями субтеломерно-теломерной теории.

Помимо этого общего соображения, субтеломерно-теломерная теория находит значительное число подтверждений, а факты, несовместимые с ее положениями, отсутствуют.

Следует подчеркнуть, что для любой теории в контексте парадигмы программированного или адаптивного старения, необходимо существование генетически детерминированных и регулируемых механизмов, которые определяют различные характеристики процесса старения. Механизмы, предложенные согласно субтеломерно-теломерной теории, по-видимому, удовлетворяют этой потребности и соответствуют имеющимся данным.

Напротив, для любой теории, принадлежащей к противоположной парадигме непрограммированного или неадаптированного старения, существование таких механизмов доказывает ее необоснованность при условии, что не будут найдены альтернативные объяснения с точки зрения эволюции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. В работе не содержатся результаты каких-либо работ с участием людей или животных, выполненные кем-либо из авторов статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Libertini, G., Corbi, G., and Ferrara, N. (2020) Importance and meaning of TERRA sequences for aging mechanisms, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 1505-1517, doi: 10.1134/S0006297920120044.
3. Libertini, G., Corbi, G., Conti, V., Shubernetskaya, O., and Ferrara, N. (2021) Evolutionary Gerontology and geriatrics – why and how we age, *Advances in Studies of Aging and Health*, 2, Switzerland, Springer, doi: 10.1007/978-3-030-73774-0.
4. 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.
5. Libertini, G. (2012) Classification of phenoptotic phenomena, *Biochem (Moscow)*, **77**, 707-715, doi: 10.1134/S0006297912070024.
6. Slijepcevic, P., and Hande, M. P. (1999) Chinese hamster telomeres are comparable in size to mouse telomeres, *Cytogenet. Cell Genet.*, **85**, 196-199, doi: 10.1159/000015292.
7. 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.
8. Kubota, C., Yamakuchi, H., Todoroki, J., Mizoshita, K., Tabara, N., et al. (2000) Six cloned calves produced from

- adult fibroblast cells after long-term culture, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 990-995, doi: 10.1073/pnas.97.3.990.
9. Lanza, R. P., Cibelli, J. B., Faber, D., Sweeney, R. W., Henderson, B., et al. (2001) Cloned cattle can be healthy and normal, *Science*, **294**, 1893-1894, doi: 10.1126/science.1063440.
 10. Fossel, M. B. (2004) *Cells, aging and Human Disease*, Oxford University Press, New York.
 11. Blackburn, E. H. (2000) Telomere states and cell fates, *Nature*, **408**, 53-56, doi: 10.1038/35040500.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. Graakjaer, J., Bischoff, C., Korsholm, L., Holstebro, S., Vach, W., et al. (2003) The pattern of chromosome-specific variations in telomere length in humans is determined by inherited, telomere-near factors and is maintained throughout life, *Mech. Ageing Dev.*, **124**, 629-640, doi: 10.1016/s0047-6374(03)00081-2.
 16. Hjelmborg, J. B., Dalgård, C., Möller, S., Steenstrup, T., Kimura, M., et al. (2015) The heritability of leucocyte telomere length dynamics, *J. Med. Genet.*, **52**, 297-302, doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102736.
 17. Brown, W. R., MacKinnon, P. J., Villasanté, A., Spurr, N., Buckle, V. J., and Dobson, M. J. (1990) Structure and polymorphism of human telomere-associated DNA, *Cell*, **63**, 119-132, doi: 10.1016/0092-8674(90)90293-n.
 18. Nergadze, S. G., Farnung, B. O., Wischniewski, H., Khoriauli, L., Vitelli, V., et al. (2009) CpG-island promoters drive transcription of human telomeres, *RNA*, **15**, 2186-2194, doi: 10.1261/rna.1748309.
 19. 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.
 20. 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.
 21. Chu, H.-P., Froberg, J. E., Kesner, B., Oh, H. J., Ji, F., et al. (2017) PAR-TERRA directs homologous sex chromosome pairing, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 620-631, doi: 10.1038/nsmb.3432.
 22. 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.
 23. Coppé, J.-P., Patil, C. K., Rodier, F., Sun, Y., Muñoz, D. P., et al. (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor, *PLoS Biol.*, **6**, 2853-2868, doi: 10.1371/journal.pbio.0060301.
 24. Cristofalo, V. J., and Pignolo, R. J. (1993) Replicative senescence of human fibroblast-like cells in culture, *Physiol. Rev.*, **73**, 617-638, doi: 10.1152/physrev.1993.73.3.617.
 25. Wang, E. (1995) Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved, *Cancer Res.*, **55**, 2284-2292.
 26. Kirkland, J. L., and Tchkonja, T. (2017) Cellular senescence: a translational perspective, *EBioMedicine*, **21**, 21-28, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.04.013.
 27. Libertini, G., and Ferrara, N. (2016) Aging of perennial cells and organ parts according to the programmed aging paradigm, *Age (Dordr.)*, **38**, 35, doi: 10.1007/s11357-016-9895-0.
 28. Horvath, S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types, *Gen. Biol.*, **14**, R115, doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115.
 29. Mammalian Methylation Consortium (2021) Universal DNA methylation age across mammalian tissues, bioRxiv, doi: 10.1101/2021.01.18.426733.
 30. Bernstein, B. E., Stamatoyannopoulos, J. A., Costello, J. F., Ren, B., Milosavljevic, A., et al. (2010) The NIH roadmap epigenomics mapping consortium, *Nat. Biotechnol.*, **28**, 1045-1048, doi: 10.1038/nbt1010-1045.
 31. Illingworth, R., Kerr, A., Desousa, D., Jørgensen, H., Ellis, P., et al. (2008) A novel CpG island set identifies tissue-specific methylation at developmental gene loci, *PLoS Biol.*, **6**, e22, doi: 10.1371/journal.pbio.0060022.
 32. Christensen, B. C., Houseman, E. A., Marsit, C. J., Zheng, S., Wrensch, M. R., et al. (2009) Aging and environmental exposures alter tissue specific DNA methylation dependent upon CpG island context, *PLoS Genet.*, **5**, e1000602, doi: 10.1371/journal.pgen.1000602.
 33. Thompson, R. F., Atzmon, G., Gheorghe, C., Liang, H. Q., Lowes, C., et al. (2010) Tissue-specific dysregulation of DNA methylation in aging, *Ageing Cell*, **9**, 506-518, doi: 10.1111/j.1474-9726.2010.00577.x.
 34. Bollati, V., Schwartz, J., Wright, R., Litonjua, A., Tarantini, L., et al. (2009) Decline in genomic DNA methylation through aging in a cohort of elderly subjects, *Mech. Ageing Dev.*, **130**, 234-239, doi: 10.1016/j.mad.2008.12.003.
 35. Bell, J. T., Tsai, P. C., Yang, T. P., Pidsley, R., Nisbet, J., et al. (2012) Epigenome-wide scans identify differentially methylated regions for age and age-related phenotypes in a healthy ageing population, *PLoS Genet.*, **8**, e1002629, doi: 10.1371/journal.pgen.1002629.
 36. Horvath, S., Zhang, Y., Langfelder, P., Kahn, R., Boks, M., et al. (2012) Aging effects on DNA methylation modules in human brain and blood tissue, *Genome Biol.*, **13**, R97, doi: 10.1186/gb-2012-13-10-r97.
 37. Rakan, V. K., Down, T. A., Maslau, S., Andrew, T., Yang, T. P., et al. (2010) Human aging-associated DNA hypermethylation occurs preferentially at bivalent chromatin domains, *Genome Res.*, **20**, 434-439, doi: 10.1101/gr.103101.109.
 38. Teschendorff, A. E., Menon, U., Gentry-Maharaj, A., Ramus, S. J., Weisenberger, D. J., et al. (2010) Age-dependent DNA methylation of genes that are suppressed in stem cells is a hallmark of cancer, *Genome Res.*, **20**, 440-446, doi: 10.1101/gr.103606.109.
 39. Hernandez, D. G., Nalls, M. A., Gibbs, J. R., Arepalli, S., van der Brug, M., et al. (2011) Distinct DNA methylation changes highly correlated with chronological age in the human brain, *Hum. Mol. Genet.*, **20**, 1164-1172, doi: 10.1093/hmg/ddq561.
 40. Koch, C. M., and Wagner, W. (2011) Epigenetic-aging-signature to determine age in different tissues, *Ageing (Albany NY)*, **10**, 1018-1027, doi: 10.18632/aging.100395.
 41. Bocklandt, S., Lin, W., Sehl, M. E., Sánchez, F. J., Sinsheimer, J. S., et al. (2011) Epigenetic predictor of age, *PLoS One*, **6**, e14821, doi: 10.1371/journal.pone.0014821.
 42. Booth, L. N., and Brunet, A. (2016) The aging epigenome, *Mol. Cell*, **62**, 728-744, doi: 10.1016/j.molcel.2016.05.013.
 43. Kane, A. E., and Sinclair, D. A. (2019) Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **54**, 61-83, doi: 10.1080/10409238.2019.1570075.
 44. Greer, E. L., and Shi, Y. (2012) Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance, *Nat. Rev. Genet.*, **13**, 343-357, doi: 10.1038/nrg31730.
 45. McCauley, B. S., and Dang, W. (2014) Histone methylation and aging: lessons learned from model systems, *Biochim. Biophys. Acta*, **1839**, 1454-1462, doi: 10.1016/j.bbagr.2014.05.008.
 46. Pal, S., and Tyler, J. K. (2016) Epigenetics and aging, *Sci. Adv.*, **2**, e1600584, doi: 10.1126/sciadv.1600584.

47. Ashapkin, V. V., Kutueva, L. I., and Vanyushin, B. F. (2017) Aging as an epigenetic phenomenon, *Curr. Genomics*, **18**, 385-407, doi: 10.2174/1389202918666170412112130.
48. Bird, A. (2002) DNA methylation patterns and epigenetic memory, *Genes Dev.*, **16**, 6-21, doi: 10.1101/gad.947102.
49. Stein, R., Razin, A., and Cedar, H. (1982) *In vitro* methylation of the hamster adenine phosphoribosyltransferase gene inhibits its expression in mouse L cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 3418-3422, doi: 10.1073/pnas.79.11.3418.
50. Hansen, R. S., and Gartler, S. M. (1990) 5-Azacytidine-induced reactivation of the human X chromosome-linked PGK1 gene is associated with a large region of cytosine demethylation in the 5' CpG island, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 4174-4178, doi: 10.1073/pnas.87.11.4174.
51. Benetti, R., Гарсна-Сao, 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.
52. Maeda, T., Guan, J. Z., Higuchi, Y., Oyama, J., and Makino, N. (2009) Aging-related alterations of subtelomeric methylation in sarcoidosis patients, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **64**, 752-760, doi: 10.1093/gerona/glp049.
53. Blasco, M. A. (2007) The epigenetic regulation of mammalian telomeres, *Nat. Rev. Genet.*, **8**, 299-309, doi: 10.1038/nrg2047.
54. 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.
55. Schellenberg, A., Lin, Q., Schüler, H., Koch, C. M., Jousen, S., et al. (2011) Replicative senescence of mesenchymal stem cells causes DNA-methylation changes which correlate with repressive histone marks, *Aging (Albany NY)*, **3**, 873-888, doi: 10.18632/aging.100391.
56. Zhou, X., Hong, Y., Zhang, H., and Li, X. (2020) Mesenchymal stem cell senescence and rejuvenation: current status and challenges, *Front. Cell. Dev. Biol.*, **8**, 364, doi: 10.3389/fcell.2020.00364.
57. Harman, D. (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry, *J. Gerontol.*, **11**, 298-300, doi: 10.1093/geronj/11.3.298.
58. Höhn, A., Weber, D., Jung, T., Ott, C., Hugo, M., et al. (2017) Happily (n)ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence, *Redox Biol.*, **11**, 482-501, doi: 10.1016/j.redox.2016.12.001.
59. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., et al. (2018) Oxidative stress, aging, and diseases, *Clin. Interv. Aging*, **13**, 757-772, doi: 10.2147/CIA.S158513.
60. Reeg, S., and Grune, T. (2015) Protein oxidation in aging: does it play a role in aging progression? *Antioxid. Redox Signal.*, **23**, 239-255, doi: 10.1089/ars.2014.6062.
61. Barnes, R. P., Fouquerel, E., and Opresko, P. L. (2019) The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis, *Mech. Ageing Dev.*, **177**, 37-45, doi: 10.1016/j.mad.2018.03.013.
62. Zuo, L., Prather, E. R., Stetskiy, M., Garrison, D. E., Meade, J. R., et al. (2019) Inflammaging and oxidative stress in human diseases: from molecular mechanisms to novel treatments, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 4472, doi: 10.3390/ijms20184472.
63. Beckman, K. B., and Ames, B. N. (1998) The free radical theory of aging matures, *Physiol. Rev.*, **78**, 547-581, doi: 10.1152/physrev.1998.78.2.547.
64. Oliveira, B. F., Nogueira-Machado, J.-A., and Chaves, M. M. (2010) The role of oxidative stress in the aging process, *ScientificWorldJournal*, **10**, 1121-1128, doi: 10.1100/tsw.2010.94.
65. 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.
66. Skulachev, V. P. (2009) New data on biochemical mechanism of programmed senescence of organisms and antioxidant defense of mitochondria, *Biochemistry (Moscow)*, **74**, 1400-1403, doi: 10.1134/s0006297909120165.
67. Bohr, V. A., and Anson, R. M. (1995) DNA damage, mutation and fine structure DNA repair in aging, *Mutat. Res.*, **338**, 25-34, doi: 10.1016/0921-8734(95)00008-t.
68. 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.
69. Franceschi, C., Bonafè, M., Valensin, S., Olivieri, F., De Luca, M., et al. (2000) Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence, *Ann. NY Acad. Sci.*, **908**, 244-254, doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x.
70. Fülöp, T. (2017) Immunosenescence and inflammaging: an intricate connection, *Innov. Aging*, **1** (Suppl 1), 961, doi: 10.1093/geroni/igx004.3465.
71. Libertini, G. (2015) Non-programmed versus programmed aging paradigm, *Curr. Aging Sci.*, **8**, 56-68, doi: 10.2174/1874609808666150422111623.
72. Wilmot, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., Kind, A. J., and Campbell, K. H. (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells, *Nature*, **385**, 810-813, doi: 10.1038/385810a0.
73. Cowan, C. A., Atienza, J., Melton, D. A., and Eggan, K. (2005) Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells, *Science*, **309**, 1369-1373, doi: 10.1126/science.1116447.
74. Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors, *Cell*, **126**, 663-676, doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
75. D'Aurtriaux, B., and Toledano, M. B. (2007) ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 813-824, doi: 10.1038/nrm2256.
76. Schieber, M., and Chandel, N. S. (2014) ROS function in redox signaling and oxidative stress, *Curr. Biol.*, **24**, R453-462, doi: 10.1016/j.cub.2014.03.034.
77. Bettin, N., Oss Pegorar, C., and Cusanelli, E. (2019) The emerging roles of TERRA in telomere maintenance and genome stability, *Cells*, **8**, 246, doi: 10.3390/cells8030246.
78. Montero, J. J., Lopez de Silanes, I., Grana, O., and Blasco, M. A. (2016) Telomeric RNAs are essential to maintain telomeres, *Nat. Commun.*, **7**, 12534, doi: 10.1038/ncomms12534.
79. Libertini, G., and Ferrara, N. (2016) Possible interventions to modify aging, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 1413-1428, doi: 10.1134/S0006297916120038.
80. 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.mrfmmm.2011.08.011.
81. 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.
82. Takai, K. K., Hooper, S., Blackwood, S., Gandhi, R., and de Lange, T. (2010) *In vivo* stoichiometry of shelterin components, *J. Biol. Chem.*, **285**, 1457-1467, doi: 10.1074/jbc.M109.038026.
83. Li, J. S. Z., Fusté, J. M., Simavorian, T., Bartocci, C., Tsai, J., et al. (2017) TZAP: A telomere-associated protein involved in telomere length control, *Science*, **355**, 638-641, doi: 10.1126/science.aah6752.
84. De Lange, T. (2005) Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres, *Genes Dev.*, **19**, 2100-2110, doi: 10.1101/gad.1346005.
85. Aksenova, A. Y., and Mirkin, S. M. (2019) At the beginning of the end and in the middle of the beginning: structure and maintenance of telomeric DNA repeats and interstitial telomeric sequences, *Genes*, **10**, 118, doi: 10.3390/genes10020118.
86. Simonet, T., Zaragosi, L.-E., Philippe, C., Lebrigand, K., Schouteden, C., et al. (2011) The human TTAGGG repeat

- factors 1 and 2 bind to a subset of interstitial telomeric sequences and satellite repeats, *Cell Res.*, **21**, 1028-1038, doi: 10.1038/cr.2011.40.
87. Kwon, S. M., Hong, S. M., Lee, Y. K., Min, S., and Yoon, G. (2019) Metabolic features and regulation in cell senescence, *BMB Rep.*, **52**, 5-12, doi: 10.5483/BMBRep.2019.52.1.291.
 88. D'Mello, N. P., and Jazwinski, S. M. (1991) Telomere length constancy during aging of *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Bacteriol.*, **173**, 6709-6713, doi: 10.1128/jb.173.21.6709-6713.1991.
 89. Laun, P., Pichova, A., Madeo, F., Fuchs, J., Ellinger, A., et al. (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.
 90. Herker, E., Jungwirth, H., Lehmann, K. A., Maldener, C., Fröhlich, K. U., et al. (2004) Chronological aging leads to apoptosis in yeast, *J. Cell Biol.*, **164**, 501-507, doi: 10.1083/jcb.200310014.
 91. 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.
 92. 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.
 93. Koch, C. M. (2012) Monitoring of cellular senescence by DNA-methylation at specific CpG sites, *Aging Cell*, **11**, 366-369, doi: 10.1111/j.1474-9726.2011.00784.x.
 94. Schellenberg, A. (2014) Proof of principle: quality control of therapeutic cell preparations using senescence-associated DNA-methylation changes, *BMC Res. Notes*, **7**, 254, doi: 10.1186/1756-0500-7-254.
 95. Fernandez-Rebollo, E. (2020) Senescence-associated metabolomic phenotype in primary and iPSC-derived mesenchymal stromal cells, *Stem Cell Rep.*, **14**, 201-209, doi: 10.1016/j.stemcr.2019.12.012.
 96. Wagner, W., Horn, P., Castoldi, M., Diehlmann, A., Bork, S., et al. (2008) Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process, *PLoS One*, **3**, e2213, doi: 10.1371/journal.pone.0002213.
 97. Spitzhorn, L. S. (2019) Human iPSC-derived MSCs (iMSCs) from aged individuals acquire a rejuvenation signature, *Stem Cell Res. Ther.*, **10**, 100, doi: 10.1186/s13287-019-1209-x.
 98. Hynes, K. (2013) Mesenchymal stem cells from iPSC cells facilitate periodontal regeneration, *J. Dent. Res.*, **92**, 833-839, doi: 10.1177/0022034513498258.
 99. Robin, J. D., Ludlow, A. T., Batten, K., Magdinier, F., Stadler, G., et al. (2014) Telomere position effect: regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances, *Genes Dev.*, **28**, 2464-2476, doi: 10.1101/gad.251041.114.
 100. Takubo, K., Aida, J., Izumiya-Shimomura, N., Ishikawa, N., Sawabe, M., et al. (2010) Changes of telomere length with aging, *Geriatr. Gerontol. Int.*, **10**, S197-S206, doi: 10.1111/j.1447-0594.2010.00605.x.
 101. Daniali, L., Benetos, A., Susser, E., Kark, J. D., Labat, C., et al. (2013) Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults, *Nat. Commun.*, **4**, 1597, doi: 10.1038/ncomms2602.
 102. Okuda, K., Bardeguet, A., Gardner, J. P., Rodriguez, P., Ganesh, V., et al. (2002) Telomere length in the newborn, *Pediatr. Res.*, **52**, 377-381, doi: 10.1203/00006450-200209000-00012.
 103. Libertini, G. (2014) Programmed aging paradigm: how we get old, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1004-1016, doi: 10.1134/S0006297914100034.
 104. Moraes, F., and Góes, A. (2016) A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge, *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, **44**, 215-223, doi: 10.1002/bmb.20952.

IS EVIDENCE SUPPORTING THE SUBTELOMERE-TELOMERE THEORY OF AGING?

Review

Giacinto Libertini^{1,2*}, Olga Shubernetskaya³, Graziamaria Corbi^{4,5}, and Nicola Ferrara^{2,6}

¹ Member of the Italian Society for Evolutionary Biology (SIBE), 14100 Asti, Italy;
E-mail: giacinto.libertini@yahoo.com

² Department of Translational Medical Sciences, Federico II University of Naples, 80131 Naples, Italy

³ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 117997 Moscow, Russia

⁴ Department of Medicine and Health Sciences, University of Molise, 86100 Campobasso, Italy

⁵ Italian Society of Gerontology and Geriatrics (SIGG), 50129 Firenze, Italy

⁶ Istituti Clinici Scientifici Maugeri SPA – Società Benefit, IRCCS, 82037 Telesse Terme (BN), Italy

The telomere theory tries to explain cellular mechanisms of aging as mainly caused by telomere shortening at each duplication. The subtelomere–telomere theory overcomes various shortcomings of telomere theory by highlighting the essential role of subtelomeric DNA in aging mechanisms. The present work illustrates and deepens the correspondence between assumptions and implications of subtelomere–telomere theory and experimental results. In particular, it is investigated the evidence regarding the relationships between aging and (i) epigenetic modifications; (ii) oxidation and inflammation; (iii) telomere protection; (iv) telomeric heterochromatin hood; (v) gradual cell senescence; (vi) cell senescence; and (vii) organism decline with telomere shortening. The evidence appears broadly in accordance or at least compatible with the description and implications of the subtelomere–telomere theory. In short, phenomena of cellular aging, by which the senescence of the whole organism is determined in various ways, appear substantially dependent on epigenetic modifications regulated by the subtelomere–telomere–telomeric hood–telomerase system. These phenomena appear to be not random, inevitable, and irreversible but rather induced and regulated by genetically determined mechanisms, and modifiable and reversible by appropriate methods. All this supports the thesis that aging is a genetically programmed and regulated phenoptotic phenomenon and is against the opposite thesis of aging as caused by random and inevitable degenerative factors.

Keywords: aging, phenoptosis, telomere, subtelomere, epigenetic changes, gradual cell senescence, cell senescence, telomeric heterochromatin hood