

УДК 577.21, 577.24, 577.25, 577.3

НЕЙРОНАЛЬНЫЙ СЧЕТЧИК ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ?

© 2020 г. В. Е. Дьяконова*

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, 26, Москва, 119334 Россия

*e-mail: dyakonova.varvara@gmail.com

Поступила в редакцию 20.12.2019 г.

После доработки 27.01.2020 г.

Принята к публикации 31.01.2020 г.

Делящиеся клетки накапливают большую часть мутаций при репликации ДНК, связанной с митомами. Как известно, обратным счетчиком возраста эукариотического организма, и потенциально накопленных мутаций его клетками является длина теломера. Геном нейронов, то есть неделящихся клеток, подвергается наибольшему мутированию уже после завершения дифференцировки, при их возбуждении и эпигенетических перестройках активности генома. При этом нейроны накапливают на порядок больше мутаций, чем делящиеся клетки. Есть ли в нейронах свой счетчик потенциально накопленных мутаций, независимо определяющий продолжительность жизни?

Ключевые слова: продолжительность жизни, мутации генома нейронов, эпигенетика, теломеры

DOI: 10.31857/S0475145020030064

Исследование Брюса Янкнера с соавторами, опубликованное в октябрьском номере *Nature* за прошлый год (Zullo et al., 2019), свидетельствует о том, что активность генов, связанных с регуляцией нейронального возбуждения, коррелирует у человека с продолжительностью жизни. У нематоды ортологи этих генов и нейрональное возбуждение определяют продолжительность жизни. Связь оказалась обратной: возбуждение сокращает жизнь.

Авторы сравнили транскриптомы фронтальной коры когнитивно-здоровых людей, ушедших из жизни в возрасте 70–80 лет и 85–100 лет ($N = 155$ и 117 соответственно). Главным отличием долгожителей оказалось снижение экспрессии генов, связанных с регуляцией возбуждения и возбуждающей межнейрональной сигнализации. Активность генов, связанных с тормозной сигнализацией (например, ГАМК), существенно не различалась, а ряда генов, регулирующих иммунный ответ, напротив, оказалась повышенной. В промоторных областях многих генов, активность которых была снижена у долгожителей, был обнаружен сайт связывания белка-репрессора REST. Ранее та же группа исследователей показала увеличение экспрессии гена REST с возрастом у людей (Lu et al., 2014). В новой работе обнаружена обратная корреляция между количеством матричной РНК белка REST и РНК генов нейронального возбуждения, характеризовавшихся пониженной экспрессией у долгожителей.

На мышах, нокаутированных по гену REST, была проверена связь этого гена непосредственно

с активностью нейронов. Накопление флуоресцентной глюкозы, захват которой нейронами усиливается при возбуждении, действительно, оказался выше у генно-модифицированных мышей с выключенным геном REST. Старые нокаутированные мыши чаще, чем контрольные, проявляли эпилептиформную активность, демонстрировали более высокую чувствительность к антагонистам ГАМК, вызывающим перевозбуждение нервной системы. Продолжительность жизни нокаутированных и контрольных мышей не была сопоставлена, что вызывает некоторое удивление. Можно предполагать, что это связано с небольшим количеством животных, из которых практически все были использованы в гистологических и фармакологических экспериментах.

Итак, полученные результаты намекали на возможную связь между возбуждением и продолжительностью жизни, но не доказывали ее. Доказательную базу авторы попробовали получить, используя далекий от млекопитающих и человека объект — нематоду *Caenorhabditis elegans*.

В первую очередь, проверили влияние на продолжительность жизни нематод дикого типа двух веществ, снижающих нейрональное возбуждение через разные механизмы. Немадипин, блокатор кальциевых каналов L-типа, и ивермектин, агонист тормозных глутаматных рецепторов безпозвоночных, снижали свечение кальциевых флуоресцентных зондов, свидетельствующих о возбуждении нейронов, и достоверно увеличивали продолжительность жизни нематод. При этом ве-

щества не повлияли на пищевое и моторное поведение червей. В следующей серии экспериментов ген дрозофилы, кодирующий рецептор к гистамину, отсутствующий в норме у нематод, встроили в геном нейронов *C. elegans*. Этот рецептор сопряжен с хлорным каналом, а вхождение хлора в клетку при активации рецептора приводит к ее торможению. Введение экзогенного гистамина приводило к снижению возбуждения нейронов у генно-модифицированных червей и увеличивало продолжительность их жизни. Затем были получены животные с избирательной экспрессией гистамин-чувствительного хлорного канала в субпопуляциях нейронов, синтезирующих преимущественно возбуждающие или преимущественно тормозные нейротрансмиттеры. Показано выраженное увеличение продолжительности жизни при торможении возбуждающих нейронов гистамином. Снижение экспрессии гена везикулярного транспортера ГАМК (преимущественно тормозный нейротрансмиттер у нематод), напротив, повышало возбуждение в нервной системе и снижало продолжительность жизни. Было проведено еще несколько подобных экспериментов в серии с изменением соотношения возбуждения-торможения в нервной системе нематод. Их результаты указывали на то, что продолжительность жизни увеличивается при подавлении возбуждения, и снижается при его повышении. А вот способность к обучению, напротив, повышалась при увеличении возбуждения в нервной системе, вызванном специфическим изменением пищевого рациона и глутаматных метаболических путей (Vohra et al., 2017).

У нематод есть ген *spr-4*, который можно считать ортологом гена *REST* млекопитающих. Ранее о нем было известно, что его продукт защищает клетки от повреждающих воздействий активных форм кислорода и некоторых других неблагоприятных воздействий. Следующая серия экспериментов была посвящена манипуляциям с этим геном и анализом продолжительности жизни нематод. Использовали недавно вошедший в обиход генных инженеров метод (RNA-guided endonuclease Cas9), позволяющий увеличивать экспрессию определенного гена. Повышение экспрессии гена *spr-4* снизило возбуждение нейронов и увеличило продолжительность жизни. Напротив, нокаут гена избирательно в нейронах привело к сокращению жизни нематод. Этот эффект оказался обратим при введении ивермектина, снижающего возбуждение. Был проведен транскриптомный анализ модифицированных нематод, который подтвердил изменение экспрессии генов, связанных с нейрональным возбуждением, у животных с измененной экспрессией *spr-4*. Авторы заключают, что *REST* и его ортологи выполняют эволюционно консервативную функцию, связанную с регуляцией возбуждения в нервной системе.

Эта регуляция, в свою очередь, оказывает влияние на продолжительность жизни.

Очевиден вопрос, почему и каким образом возбуждение нейронов может регулировать продолжительность жизни? Пока в качестве ответа на этот вопрос авторы предложили гены – возможные мишени действия нейронального возбуждения. Это гены факторов транскрипции: *FOXO1* у млекопитающих, экспрессия которого подавляется при возбуждении, и его возможный ортолог *daf-16* у нематод. Предполагается, что эти гены могут связывать нейрональную активность с метаболизмом. *FOXO1* участвует в метаболизме глюкозы и инсулиновых метаболических путях в клетках мозга, вызывает апоптоз и тормозит клеточные деления у нервных клеток.

Несмотря на очевидные выводы из результатов работы на нематодах, их применимость к млекопитающим остается под сомнением. Совершенно не исключено, что снижение возбуждения нейронов и повышение экспрессии *REST* у человека является естественным результатом старения. Причинно-следственные связи между продолжительностью жизни и экспрессией *REST* у млекопитающих не были выявлены: хотя мыши, нокаутированные по белку *REST*, были получены, почему-то не была исследована продолжительность их жизни. В то же время, есть дополнительные теоретические основания предполагать, что найденное явление может быть распространено и на других животных, обладающих нервной системой.

Выход этой работы Брюса Янкера оживил давнюю тему “платы за ум”. Даже беглый просмотр результатов заставляет вспомнить о повышенной возбудимости и тревожности крыс, мышей и дрозофил при отборе на когнитивные способности и про интригующую обратную связь между способностью к обучению и продолжительностью жизни дрозофил (обзор Дьяконова, 2015). Отбор на способность к обучению приводил к снижению продолжительности жизни на 15%, а отбор на продолжительность жизни – к ухудшению способности обучаться в молодом возрасте на 40% (Burger et al., 2008).

Известно, что возбуждение нейрона повышает выработку свободных радикалов, то есть потенциальных мутагенов. Недавно у млекопитающих (мыши) было показано широкое деметилирование генома клеток гиппокампа при возбуждении (Grassi et al., 2017), что, как известно, снижает защищенность генома от мутагенов. Из тысяч генов, изменивших свою активность после введения хлорида калия, вызывающего неспецифическое повышение электрической активности нейронов, у примерно 90% наблюдалось активное деметилирование, и только у 10% – обратный эффект. Используя модель вызванной стрессом депрессии,

снижающей активность гиппокампа, авторы показали обратный эффект — подавление экспрессии гетерохроматинового релаксера — деметилазы GADD 45. Не только неспецифическое возбуждение, опосредованное хлоридом калия, но и классическое глутаматное возбуждение активирует пути, ведущие к активации GADD45 и деметилированию (Sultan, Sweatt 2013). Эти данные свидетельствуют о том, что при возбуждении нейрона может одновременно увеличиваться выброс потенциальных мутагенов и снижаться защищенность генома от них, за счет деконденсации хроматина и деметилирования ДНК.

С этим предположением согласуются данные по изучению геномов нейронов человека и мыши, в которых показано накопление мутаций, превышающее нормы для ненервных клеток (Evrony et al., 2012; Hazen et al., 2016). Важно, что большую часть мутаций нейроны приобретали уже во время взрослой жизни, а не в процессе нейрогенеза, включающего деление клеток-предшественников и репликации ДНК. Кроме того, мутации накапливались в эухроматиновых смысловых областях генома, и больше всего их было в тех генах, которые наиболее активно экспрессировались. Этим нейроны также отличались от ненервных клеток, которые, напротив, “умеют защищать от мутаций” именно те гены, которые они чаще используют. По-видимому, нейроны по какой-то причине не применяют такую защиту, либо она оказывается недостаточно эффективной при их скорости мутагенеза. Высказывались предположения, что снижение защиты может быть связано с пластичностью нервной системы, напрямую зависящей от пластичности генома. Действительно, зависимость когнитивных функций от эпигенетических перестроек активности генома клеток нервной системы показана уже во многих исследованиях (см. обзор Sweatt, 2016). Гипотеза А.Л. Крушинского о том, что за приобретение информации мозг платит не только энергетическую, но и информационную цену (Крушинский, 2013, 2014), получила вполне конкретное экспериментальное основание.

Сокращение продолжительности жизни нейронов при повышении их уровня возбуждения может быть защитой от неадекватного поведения испорченных клеток. Но в конечном счете общее сокращение жизни нервной системы приведет к уменьшению продолжительности жизни организма. Возможно, именно эти эффекты наблюдал Янкер в своей работе.

С большой вероятностью можно ожидать, что зависимость продолжительности жизни от нейронального возбуждения проявится наиболее явно на небольшом по количеству нейронов мозге, таком как мозг *C. elegans* с 300-ми нейронами. И, наоборот, чем больше будет нейрональная избы-

точность или попросту количество нейронов, тем слабее будет такая зависимость. Увеличение числа нейронов может служить не только усложнению системы, но и ее защите при случайном мутагенезе. Случайный мутагенез, сопровождающий активность клетки предполагает, и то, что увеличение числа нейронов станет защитой только в том, случае, если активность будет распределена между клетками. Если только часть нейронов будет постоянно участвовать в пластических перестройках, они также накопят мутации, как и в малом по числу нейронов мозге.

Просматривается интересная параллель с функцией теломер, ведущих отсчет клеточных делений и определяющих старение ненервных клеток (Olovnikov 1971, 1973). Репликация у ненервных клеток — процесс, наиболее отягощенный мутагенезом. Недавняя работа показала, что большинство канцерогенных мутаций организм накапливает именно во время репликаций ДНК при делении клеток, и в гораздо меньше степени в результате воздействия внешних факторов (Tomasetti et al., 2017). Таким образом, длина теломер, определяющая продолжительность жизни клетки, и в конечном счете организма, действительно может быть не столько индикатором возраста, сколько счетчиком потенциально-накопленных “закономерных” мутаций или “испорченности” генома. Искусственная активация теломераз, достраивающих теломеры после репликации, увеличивает продолжительность жизни клеток, но приводит к увеличению количества мутаций. Высоким уровнем теломеразной активности отличаются раковые клетки. Если то, за чем организму важно следить, это не возраст как таковой, а потенциальное количество накопленных повреждений генома, то в клетках нервной системы, накапливающих большинство мутаций не при делении, а при активной работе, можно ожидать существования иного счетчика.

По количеству репликаций можно оценивать вероятное накопление мутаций в ненервных клетках, у нейронов таким косвенным признаком может быть интенсивность и длительность возбужденного состояния. Есть ли такой же универсальный счетчик возбужденного состояния нейрона, как счетчик клеточных делений по длине теломерных участков в делящихся клетках, пока неизвестно. FOXO1, относящийся к семейству forkhead box — содержащих транскрипционных факторов, был предложен Брюсом Янкером в качестве эволюционно-консервативной мишени нейронального возбуждения. Однако он, скорее всего, является лишь одним из участников сложного каскада. Если счетчик существует, то он должен удовлетворять обязательному условию — необратимо менять свое состояние при процессах, связанных с возбуждением.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дьяконова В.Е. Сколько стоят когнитивные способности? // Российский журн. когнитивной науки. 2015. Т. 2. № 2–3. С. 70–77.
- Крушинский А.Л. Биофизические аспекты рассудочной деятельности // Формирование поведения животных в норме и патологии. К 100-летию со дня рождения Л.В. Крушинского (1911–1984) / Под ред. Полетаевой И.И., Зориной З.А. М.: Изд-во Языки славянской культуры, 2013. С. 424–436.
- Крушинский А.Л. Плата за решение задачи: биофизические предпосылки и возможные эволюционные последствия // Российский журн. когнитивной науки. 2015. Т. 2. № 1. С. 52–61.
- Burger J., Kolss M., Pont J., Kawecki T.J. Learning ability and longevity: A symmetrical evolutionary trade-off in *Drosophila* // *Evolution*. 2008. V. 62. № 6. P. 1294–1304. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00376.x>
- Evrory G.D., Cai X., Lee E. et al. Single-neuron sequencing analysis of L1 retrotransposition and somatic mutation in the human brain // *Cell*. 2012. V. 151. № 3. P. 483–496.
- Grassi D., Franz H., Vezzali R. et al. Neuronal activity, TGF β -signaling and unpredictable chronic stress modulate transcription of Gadd45 family members and DNA methylation in the hippocampus // *Cereb. Cortex*. 2017. V. 27. № 8. P. 4166–4181. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx095>
- Hazen J.L., Faust G.G., Rodriguez A.R. et al. The complete genome sequences, unique mutational spectra, and developmental potency of adult neurons revealed by cloning // *Neuron*. 2016. V. 89. № 6. P. 1223–1236. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.02.004>
- Lu T., Aron L., Zullo J. et al. REST and stress resistance in ageing and Alzheimer's disease // *Nature*. 2014. V. 507. P. 448–454.
- Olovnikov A.M. Principle of marginotomy in template synthesis of polynucleotides // *Dokl. Akad. Nauk SSSR*. 1971. V. 201. № 6. P. 1496–1499.
- Olovnikov A.M. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon // *J. Theor. Biol.* 1973. V. 41. № 1. P. 181–190.
- Sultan F.A., Sweatt J.D. The role of the gadd45 family in the nervous system: a focus on neurodevelopment, neuronal injury, and cognitive neuroepigenetics // *Gadd45. Stress Sensor Genes* / Eds. Liebermann D.A., Hoffman B. Springer, 2013. P. 81–121.
- Zullo J.M., Drake D., Aron L. et al. Regulation of lifespan by neural excitation and REST // *Nature*. 2019. V. 574. № 7778. P. 359–364. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1647-8>
- Vohra M., Lemieux G.A., Lin L., Ashrafi K. The beneficial effects of dietary restriction on learning are distinct from its effects on longevity and mediated by depletion of a neuroinhibitory metabolite // *PLoS Biology*. 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002032>

Neuronal Counter of the Life Span: Does It Exist?

V. E. Dyakonova*

Koltzov Institute of Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova, 26, Moscow, 119334 Russia

*e-mail: dyakonova.varvara@gmail.com

Dividing cells accumulate most of the mutations during DNA replication associated with mitosis. The telomere length is a well known countdown counter of the age of an eukaryotic organism and of mutations potentially accumulated by its cells. The genome of neurons, i.e. non-dividing cells, accumulates the greatest number of mutations after the completion of cell differentiation, upon neuron excitations and epigenetic modifications of its genome activity. At the same time, neurons accumulate much more mutations than dividing cells. Do neurons have their own counter of potentially accumulated mutations that independently determines the life span expectancy?

Keywords: life span, neuronal genome mutations, epigenetics, telomeres