

Владі Аліна Володимирівна

здобувач вищої освіти факультету хімічних та біофармацевтичних технологій
Київський Національний Університет Технологій та Дизайну, Україна

Науковий керівник: Щербатюк Тетяна Григорівна

доктор біологічних наук, професор кафедри біотехнології, шкіри та хутра
Київський Національний Університет Технологій та Дизайну, Україна

ТЕЛОМЕРИ: ОБМЕЖЕННЯ ЧИ МОЖЛИВОСТІ?

АНОТАЦІЯ. У статті розглянуто сучасні наукові підходи до вивчення природи теломер, механізмів їх вкорочення та регуляції, ролі теломерази, а також впливу теломерної динаміки на процес старіння людини. У сучасній науці теломери розглядаються не лише як маркер біологічного віку, але й як фактор ризику для розвитку ряду вікових захворювань, зокрема серцево-судинних, онкологічних та нейродегенеративних патологій. Дослідження впливу способу життя, харчування, стресу та екологічних чинників на довжину теломер є перспективним напрямом у геронтології та персоналізованій медицині. У роботі також розглянуто сучасні підходи до потенційного продовження клітинного життя шляхом збереження або відновлення довжини теломер.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: теломери, теломераза, вікові захворювання, персоналізована медицина

Вступ

Теломери — спеціалізовані нуклеотидні послідовності, розташовані на кінцях хромосом, які виконують функцію "захисних ковпачків", запобігаючи злипанню хромосом та втраті генетичної інформації під час клітинного поділу. З кожною реплікацією ДНК теломери поступово скорочуються, що є природним обмеженням для кількості поділів клітини. Коли теломери досягають критичної довжини, клітина втрачає здатність до поділу та входить у стан сенесценції або піддається апоптозу — програмованій клітинній смерті. Цей механізм, відомий як ліміт Гейфліка, розглядається як один із головних біологічних годинників, що визначає процес старіння на клітинному рівні. Однак не всі клітини дотримуються цього "ліміту". Завдяки

РОЗДІЛ 9.**БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

активності спеціального ферменту теломерази, деякі клітини — наприклад, статеві, стовбурові та ракові — здатні частково або повністю підтримувати довжину своїх теломер, що забезпечує їм високу проліферативну здатність. Саме це відкриття стало важливою віхою у вивченні як механізмів старіння, так і потенційних способів його уповільнення або навіть зупинки.

Фактори, що впливають на довжину теломер

Сучасність характеризується тенденцією збільшення тривалості життя людей економічно розвинених країнах. У 2025 році близько 1,2 мільярда людей віком понад 60 років становить близько 1,2 мільярда, а до 2050 року їхня кількість зросте до 2 мільярдів. Однак збільшення тривалості життя не збігається зі збільшенням тривалості здоров'я, тобто періоду життя, вільного від серйозних хронічних захворювань та інвалідності. Фактично, вплив старіння на людину відповідає за фізіологічні дисфункції в різних тканинах, органах і системах, включаючи імунну систему. Вікове залучення імунної системи призводить до прогресуючого зниження здатності запускати ефективні антитільні та клітинні відповіді проти інфекцій та вакцинації.

Галузь старіння зазнала різкого розширення за останні три десятиліття після відкриття, що воно контролюється, принаймні певною мірою, еволюційно консервативними шляхами. Відтоді було постульовано дев'ять ознак старіння. Основними причинними ознаками є геномна нестабільність, пошкодження теломер та епігенетичні зміни, які частково перекриваються або переплітаються одна з одною. Наприклад, пошкодження теломер також призводить до геномної нестабільності. Ще однією ознакою є мітохондріальна дисфункція, яка також тісно пов'язана з геномною нестабільністю, оскільки клітини мають два геноми: ядерний геном та мітохондріальний геном. Крім того, мітохондрії є місцем, де виробляється більшість внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК). Теорія старіння на основі вільних радикалів припускає, що активні форми кисню (АФК) викликають окислювальне пошкодження як мітохондріальної ДНК (мтДНК), так і ядерної ДНК, що призводить до накопичення мутацій і зрештою до старіння. Зараз добре відомо, що ця теорія є надмірно спрощеною і є лише частиною історії, оскільки АФК також можуть активувати компенсаторні шляхи, які можуть нейтралізувати їхній шкідливий вплив [1].

У 1930-х роках Мак-Клінток і Мюллер виявили, що хромосомні кінці кукурудзи та *Drosophila melanogaster* існують унікальні структури. Мюллер дав цій структурі назву «теломера» і вважає за необхідне уникати злиття кінців хромосом. У 1972 році Вотсон (James Dewey Watson), виходячи з асиметрії лінійної реплікації ДНК, припустив, що кожен раунд поділу клітини призведе до втрати ДНК хромосомних кінців, що призведе до поступового вкорочення теломер. Теломери можуть підтримувати цілісність хромосом. Структурно теломери складаються з тандемних повторів

TTAGGG, які містять від тисяч до десятків тисяч основ і утворюють один ланцюг з 75–300 нуклеотидів, багатого на гуанінові нуклеотиди. Теломери захищені білком, який називається шелтериновим комплексом, що являє собою мультимер. Мутації в будь-якому з його компонентів руйнують теломерно-шелтериновий комплекс, що призводить до термінального злиття та передчасного старіння. У 1985 році Грайдер і Блекберн виявили новий тип ферменту, який може додавати повторювані послідовності ДНК до кінців хромосом для збільшення довжини теломер, відомий як теломераза. Теломераза – це конститутивний «домашній» фермент, який використовує TERT та інші каталітичні білки для синтезу теломерних повторів з власної матричної РНК. Теломераза у великій кількості експресується в клітинах з вищою здатністю до проліферації, таких як статеві клітини, недиференційовані стовбурові клітини та клітини-попередники [2].

Інші дослідження показали, що надмірна експресія TERT має захисний ефект на цілісність мтДНК при оксидативному стресі. Слід зазначити, що ядерний експорт ендогенного TERT був виявлений як в ендотеліальних клітинах, так і в клітинах HEK293, але мітохондріальна локалізація в цих дослідженнях досліджувалася з надмірною експресією екзогенного TERT. Розбіжність між впливом надмірної експресії TERT на цілісність мтДНК може бути результатом різних рівнів надмірної експресії TERT або різних умов росту клітин.

Довжина теломер лейкоцитів вважається одним із найбільш прогностичних маркерів біологічного старіння.

Теломери – це повторювані послідовності ДНК, розташовані на кінці кожної хроматиди. Кілька білків, такі як фактор зв'язування повторів теломер (TRF) 1 та 2, специфічно зв'язуються з цією ділянкою, утворюючи великі нуклеопротейнові комплекси, t-петлі. Ці структури захищають ДНК від деградації та злиття кінців. Теломери скорочуються з кожним клітинним циклом через нездатність ДНК-полімерази реплікувати кінець відстаючого ланцюга. Таким чином, скорочення теломер було запропоновано як «мітотичний годинник», який обмежує реплікаційну тривалість життя клітин і викликає старіння клітин. Фактично, довжина теломер лейкоцитів пов'язана не лише з хронологічним віком, але й з багатьма захворюваннями, пов'язаними зі старінням, такими як хвороба Альцгеймера, серцево-судинні захворювання та рак. Таким чином, його було запропоновано як потенційний біомаркер біологічного старіння [4].

Висихання теломер

Накопичення пошкоджень ДНК з віком, здається, впливає на геном майже випадковим чином, але є деякі хромосомні ділянки, такі як теломери, які особливо схильні до вікового руйнування.

РОЗДІЛ 9.**БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

Реплікативні ДНК-полімерази не мають здатності повністю реплікувати кінцеві кінці лінійних молекул ДНК, функція, яка є власною властивістю спеціалізованої ДНК-полімерази, відомої як теломераза. Однак більшість соматичних клітин ссавців не експресують теломеразу, і це призводить до прогресивної та кумулятивної втрати теломер-захисних послідовностей з кінців хромосом. Виснаження теломер пояснює обмежену проліферативну здатність деяких типів клітин, культивованих *in vitro*, так зване реплікативне старіння або межу Гейфліка. Дійсно, ектопічна експресія теломерази достатня для того, щоб надати безсмертя інакше смертним клітинам, не викликаючи онкогенної трансформації. Важливо, що скорочення теломер також спостерігається під час нормального старіння як у людей, так і у мишей.

Теломери зв'язані характерним мультибілковим комплексом, відомим як шелтерин. Головна функція цього комплексу полягає в запобіганні доступу білків репарації ДНК до теломер. В іншому випадку теломери «ремонтувалися б» у міру розривів ДНК, що призводило б до злиття хромосом. Через обмежену репарацію ДНК, пошкодження ДНК на теломерах є особливо стійким і дуже ефективним в індукції старіння та/або апоптозу.

Дефіцит теломерази у людей пов'язаний з передчасним розвитком захворювань, таких як легеневий фіброз, вроджена дискератоза та апластична анемія, які пов'язані з втратою регенеративної здатності різних тканин. Розкриття теломер та нестримне злиття хромосом також можуть бути результатом дефіциту компонентів шелтерину. Мутації шелтерину були виявлені в деяких випадках апластичної анемії та вродженої дискератози. Різні моделі втрати функції компонентів шелтерину характеризуються швидким зниженням регенеративної здатності тканин та прискореним старінням, явищем, яке відбувається навіть за наявності теломер нормальної довжини.

Генетично модифіковані тваринні моделі встановили причинно-наслідкові зв'язки між втратою теломер, клітинним старінням та старінням організму. Таким чином, миші зі вкороченими або подовженими теломерами демонструють відповідно зменшення або збільшення тривалості життя. Нещодавні дані також вказують на те, що старіння можна зупинити шляхом активації теломерази. Зокрема, передчасне старіння мишей з дефіцитом теломерази можна зупинити, коли теломераза генетично реактивується у цих старих мишей. Більше того, нормальне фізіологічне старіння можна відтермінувати без збільшення захворюваності на рак у дорослих мишей дикого типу шляхом системної вірусної трансдукції теломерази. У людей нещодавні метааналізи підтвердили існування

сильного зв'язку між короткими теломерами та ризиком смертності, особливо у молодшому віці [5].

Методи дослідження довжини теломер

Теломери скорочуються під час кожного раунду поділу клітини через проблему кінцевої реплікації. Така прогресуюча ерозія теломер, якщо її не компенсувати, зрештою призведе до припинення поділу клітин. Теломераза, фермент рибонуклеопротейнів, може додавати теломерні повтори до 3'-кінця ДНК теломер. Цей фермент відіграє важливу роль у підтримці гомеостазу довжини теломер у кількох важливих біологічних процесах, що потребують стійкої проліферації клітин, наприклад, канцерогенезі, ембріональний розвиток, та самооновлення плюрипотентних стовбурових клітин. Теломераза експресується приблизно в 85–95% пухлини, але рідко в соматичних клітинах. Через свою участь у канцерогенезі теломераза вже давно вважається універсальним діагностичним маркером та терапевтичною мішенню для боротьби зі злоякісними пухлинами. З іншого боку, теломеразу розглядають як кандидата для боротьби з віковими захворюваннями. Тимчасове посилення або передача активності теломеразі в клітинах вселяло багатообіцяючі надії у такі застосування. З цих причин рутинний аналіз теломеразі має бути надзвичайно корисним у охороні здоров'я та медицині.

Завдяки поєднанню ретельного проектування та оптимізації лізису клітин, обробки зразків та послідовностей праймерів, було створено практичніший, чутливий, швидкий, точний, кількісний та відтворюваний протокол з широким діапазоном лінійності для вимірювання активності теломеразі. Стратегія «змішай та пройди» значно спрощує операцію та, що найважливіше, мінімізує помилки під час відбору проб та можливість контамінації. У порівнянні з наявними або описаними на даний момент методами SES-TRAP – це перший практичний метод, який демонструє найчутливіше на сьогодні виявлення активності теломеразі на рівні окремого теломеразного комплексу. Він надійно працює на популяційному, клітинному та субклітинному рівнях для теломеразо-позитивних клітин. SES-TRAP також робить можливим вимірювання в інших типах клітин, включаючи нормальні клітини, на популяційному або окремому клітинному рівні. Широка лінійність та чудова чутливість SES-TRAP полегшують вимірювання зразків із широкою варіацією кількості клітин, що є поширеним явищем у клінічній практиці. Використовуючи переваги платформи ПЛР у реальному часі, аналізи можна легко виконувати з гнучким масштабом пропускнуої здатності як у дослідженнях, так і в клініках.

SES-TRAP мав на меті забезпечити точний та чутливий, але водночас простий одностадійний протокол змішування та проведення, використовуючи універсальний ПЛР-розчин – ретельно налаштовану та

РОЗДІЛ 9.**БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

оптимізовану суміш усіх інгредієнтів, необхідних для проведення субстратного розширення, ПЛР-ампліфікації та зчитування сигналу.

Здатність надійно виявляти активність теломери в окремих клітинах повинна допомогти в характеристиці та функціональному вивченні окремих клітин у гетерогенних клітинних популяціях. Лінія змін активності теломери на ранніх стадіях розвитку ембріона миші показала, що експресія теломери вимкнена у частині клітин, але зберігається в інших. Це явище може відображати участь теломери в ембріональній диференціації, що заслуговує на подальше дослідження. Пухлини вміщують дуже гетерогенні клітинні популяції з відмінними клінічними характеристиками, такими як чутливість до ліків та прогнозування результатів лікування. Можливість SES-TRAP працювати з окремими клітинами також може бути корисною для ідентифікації рідкісних клітин у клітинній популяції, які інакше не могли б бути виявлені за допомогою інших теломеразних аналізів. Наприклад, ракові стовбурові клітини та плюрипотентні стовбурові клітини можуть бути ідентифіковані з інших клітин у змішаних популяціях. Ці рідкісні клітини можуть бути важливішими, ніж велика популяція. Вимірювання активності теломери в цих клітинах має значно допомогти дослідити функціональні ролі, які вони відіграють.

Здатність SES-TRAP вимірювати активність теломери в клітинах, які раніше вважалися теломеразонегативними, також дає можливість вивчити роль низької експресії теломери в таких клітинах.

SES-TRAP має знайти потенційне застосування в охороні здоров'я та клініках. Наприклад, виявлення активності теломери в біопсії тканин та циркулюючих пухлинних клітинах у крові може допомогти діагностувати рак. Ракові стовбурові клітини підтримують ріст пухлини та рецидив після терапії [6].

Теломери вважалися поширеною крихкою ділянкою геному для пошкодження ДНК через багату на G послідовність та тандемні повтори. Вони були сприятливими мішенями для пошкодження ДНК, яке розпізнається оксидативним стресом. Коли теломери стають критично короткими або достатньо пошкодженими, зняті з захисних смуг теломери запускають сигналізацію пошкодження ДНК та призводять до різних розладів, пов'язаних зі старінням, процес укорочення теломер може бути прискорений оксидативним стресом та хронічним запаленням. Шкідливі фактори навколишнього середовища можуть прискорити втрату теломер та бути пов'язаними з дегенеративними захворюваннями. Було помічено, що забруднення важкими металами у воді, ґрунті, перевищення в атмосфері твердих забруднювачів може спричинити передчасне старіння, пов'язане з теломерами, а деякі конгенери можуть знижувати активність теломери та скорочувати довжину теломер у клітинах. Таким чином, теломери можна

розглядати як датчик підтримки органічного здоров'я в умовах екологічного стресу [7].

Вплив дієти на довжину теломер

З усіх спроб уповільнити старіння, обмеження калорій (ОК), здається, є єдиним, який впливає на більшість модельних видів. У ядрі ОК посилює репарацію ДНК та покращує ерозію теломер. У мітохондріях воно посилює антиоксидантні функції та знижує вироблення активних форм кисню.

Дієта, фізична активність та інші фактори способу життя були пов'язані з патофізіологією кількох хронічних захворювань, а також із зниженням загальної смертності та збільшенням тривалості життя. Одним із механізмів, за допомогою якого дієта може знизити ризик захворювань, є її вплив на теломери. Довжина теломер (ДТ) тісно корелює з хронологічним віком та метаболічним статусом. Особи з коротшими теломерами мають вищий ризик хронічних захворювань та смертності. Дієта може впливати на ДТ кількома механізмами, такими як регулювання оксидативного стресу та запалення або модуляція епігенетичних реакцій.

Кілька епідеміологічних досліджень та клінічних випробувань проаналізували зв'язок між групами продуктів харчування та здоров'ям теломер, виходячи з гіпотези, що вони можуть впливати на процес старіння через антиоксидантну та протизапальну дію. Овочі, фрукти, бобові та горіхи є джерелами поліфенолів, ненасичених жирних кислот (у випадку горіхів) та клітковини. Їх споживання пов'язують з позитивним впливом на маркери запалення та оксидативного стресу, а також з інсулінорезистентністю або іншими факторами ризику серцево-судинних захворювань паралельно з подовженням теломер. Натомість, оброблене м'ясо, алкогольні напої або підсолоджені газовані напої, а також інші продукти, багаті на насичені жирні кислоти, алкоголь та цукор, часто пов'язують із запаленням та оксидативним стресом паралельно з коротшими теломерами.

Було доведено, що різні класи мікронутрієнтів, такі як вітаміни, мінерали та інші біоактивні сполуки, відіграють захисну роль проти оксидативного стресу та пошкодження ДНК. Фолат та вітамін В-12, зокрема, викликали інтерес у багатьох дослідженнях через їхню важливу роль у синтезі пуринів та піримідинів. Вітамін D, жиророзчинний вітамін, у деяких дослідженнях обернено пов'язували з низькою смертністю від усіх причин, діабетом 2 типу та запаленням.

Концептуально, харчові моделі описують загальний раціон та харчові звички населення, і тому можуть бути кращим прогнозом ризику захворювання, ніж окремі продукти харчування чи поживні речовини. Досліджуються всі потенційні механізми, пов'язані з регуляцією підтримки теломер за допомогою харчування.

РОЗДІЛ 9.**БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

Очевидно, що різні фактори навколишнього середовища, такі як дієта та спосіб життя, можуть стимулювати ці біологічні механізми підтримки теломер, сприяючи або запобігаючи клітинному оксидативному стресу та запаленню. Окрім сприяння антиоксидантному середовищу, дієта також може відігравати важливу епігенетичну роль у підтримці теломер шляхом ацетилювання та/або метилювання гістонів, які безпосередньо пов'язані з рекомбінацією теломер.

Аналіз харчових моделей отримав значну увагу в епідеміологічних дослідженнях харчування протягом останніх років у зв'язку з їхнім новим впливом також на профілактику хронічних захворювань. Середземноморська дієта (MedDiet) є однією з найкращих моделей харчування, проаналізованих стосовно ризику серцево-судинних захворювань та інших наслідків для здоров'я, включаючи зниження загальної смертності та підвищення ймовірності здорового старіння.

Деякі ключові продукти середземноморської дієти, такі як овочі, насіння, фрукти, оливкова олія, горіхи та вино, особливо багаті на антиоксидантні та протизапальні компоненти, і їх споживання широко пов'язане з покращенням кількох запальних та оксидантних біомаркерів, які беруть участь у підтримці ДТ. Дотримання дієти було позитивно пов'язане з активністю теломерази і, відповідно, з довшим тривалістю перетравлення тіла [8].

Висновок

Соціальний та економічний тягар, спричинений старінням населення світу, поступово зростає, і дослідження механізмів старіння не можна відкладати. Ознаки старіння складаються з різноманітних молекулярних механізмів та клітинних систем, які пов'язані один з одним та спільно сприяють старінню. З точки зору біології теломер, в досліджах показано, як дисфункція теломер впливає на молекулярно-біологічний процес численних маркерів старіння. Довжина теломер тісно корелює з хронологічним віком та метаболічним статусом. Особи з коротшими теломерами мають вищий ризик хронічних захворювань та смертності.

Кількісне профілювання активності теломерази загалом та виявлення/оцінка ракових стовбурових клітин зокрема за активністю теломерази в популяції пухлинних клітин може надати важливу інформацію щодо злоякісності, метастазування та результатів лікування пацієнтів. Вимірювання активності теломерази в таких клітинах та оцінка їхньої кількості може допомогти передбачити оновлення та омолодження органів.

Дієта, фізична активність та інші фактори способу життя були пов'язані з патофізіологією кількох хронічних захворювань, а також із зниженням загальної смертності та збільшенням тривалості життя. Результати досліджень показують позитивний зв'язок між споживанням харчових

волокон та теломерами, що свідчить про те, що якість вуглеводів, і особливо харчових волокон, може мати потенційно корисний вплив на здоров'я теломер паралельно зі зниженням ризику хронічних захворювань. Одним із механізмів, за допомогою якого дієта може знизити ризик захворювань, є її вплив на теломери.

Список використаних джерел:

- [1] Zheng Q, Huang J, Wang G. Mitochondria, Telomeres and Telomerase Subunits. *Front Cell Dev Biol.* 2019 Nov 6;7:274. doi: 10.3389/fcell.2019.00274.
- [2] Li S, Liu Z, Zhang J, Li L. Links between telomere dysfunction and hallmarks of aging. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2023 May-Jun;888:503617. doi: 10.1016/j.mrgentox.2023.503617.
- [3] Zheng Q, Huang J, Wang G. Mitochondria, Telomeres and Telomerase Subunits. *Front Cell Dev Biol.* 2019 Nov 6;7:274. doi: 10.3389/fcell.2019.00274.
- [4] Zierer J, Kastenmüller G, Suhre K, Gieger C, Codd V, Tsai PC, Bell J, Peters A, Strauch K, Schulz H, Weidinger S, Mohny RP, Samani NJ, Spector T, Mangino M, Menni C. Metabolomics profiling reveals novel markers for leukocyte telomere length. *Aging (Albany NY).* 2016 Jan;8(1):77-94. doi: 10.18632/aging.
- [5] Carlos López-Otín, Maria A. Blasco, Linda Partridge, Manuel Serrano, Guido Kroemer, The Hallmarks of Aging, *Cell*, Volume 153, Issue 6, 2013, P.1194-1217, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>.
- [6] Zheng KW, Liu C, Meng Q, Hao YH, Zheng JP, Li W, Tan Z. One-Step High-Throughput Telomerase Activity Measurement of Cell Populations, Single Cells, and Single-Enzyme Complexes. *ACS Omega.* 2020 Sep 15;5(38):24666-24673. doi: 10.1021/acsomega.0c03246.
- [7] Jinghua Yuan, Yang Liu, Juan Wang, Yuxia Zhao, Keqiu Li, Yaqing Jing, Xiaoning Zhang, Qiang Liu, Xin Geng, Guang Li, Feng Wang, Long-term Persistent Organic Pollutants Exposure Induced Telomere Dysfunction and Senescence-Associated Secretory Phenotype, *The Journals of Gerontology: Series A*, т. 73, випуск 8, серпень 2018 р., с. 1027–1035, <https://doi.org/10.1093/gerona/gly002>
- [8] Galiè S, Canudas S, Muralidharan J, García-Gavilán J, Bulló M, Salas-Salvadó J. Impact of Nutrition on Telomere Health: Systematic Review of Observational Cohort Studies and Randomized Clinical Trials. *Adv Nutr.* 2020 May 1;11(3):576-601. doi: 10.1093/advances/nmz107.