

СТАРЕНИЕ И ОМОЛОЖЕНИЕ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК — НОВЫЙ ПУТЬ К АКТИВНОМУ ДОЛГОЛЕТИЮ?

© В.П. Баклашев^{1, 2, 3}, Е.М. Самойлова^{1, 2}, В.А. Кальсин^{1, 2}, Г.М. Юсубалиева^{1, 2}

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация

² Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта, Москва, Российская Федерация

³ Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация

В обзоре представлены современные данные о методологии оценки биологического и эпигенетического возраста; описана концепция эпигенетических часов; охарактеризованы основные виды резидентных стволовых клеток и особенности их старения. Показано, что возрастные изменения органов и тканей, а также ассоциированные с возрастом заболевания во многом обусловлены старением резидентных стволовых клеток. Последние представляют собой привлекательную мишень для клеточного омоложения, поскольку могут быть отобраны, культивированы ex vivo, модифицированы и вновь возвращены в резидентные ниши. Основные методологии клеточного омоложения включают генетическое репрограммирование с «обнулением» возраста клетки с помощью транзиторной экспрессии транскрипционных факторов, а также различные подходы к эпигенетическому омоложению, путем изменения генетической экспрессии про- и антивозрастных факторов, модулирования клеточного метаболизма. Тесная взаимосвязь старения, регенерации и онкогенеза между собой и с функционированием ниш резидентных стволовых клеток требует дальнейших прецизионных исследований, результатом которых, мы уверены, может стать создание эффективной стратегии антиэйджинга и продления активной жизни человека.

Ключевые слова: резидентные стволовые клетки; старение; репрограммирование; омоложение; эпигенетические часы.

Для цитирования: Баклашев В.П., Самойлова Е.М., Кальсин В.А., Юсубалиева Г.М. Старение и омоложение резидентных стволовых клеток — новый путь к активному долголетию? *Клиническая практика*. 2022;13(1):79–91. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract104999>

Поступила 16.02.2022

Принята 17.03.2022

Опубликована 31.03.2022

ВВЕДЕНИЕ

Старение организма характеризуется постепенным упадком многих физиологических функций: снижением метаболической активности, увеличением массы жировой ткани и уменьшением мышечной массы [1], нарушением циркадианных циклов сна/бодрствования и ослаблением иммунной системы [2], снижением когнитивных функций, дисфункцией сетчатки и пр. [3]. Достижения современного здравоохранения увеличили продолжительность жизни в развитых странах, поэтому проблема сохранения высокого качества жизни в процессе старения становится одной из самых актуальных.

Как любой биологический процесс, старение определяется комплексным воздействием генетических программ и факторов внешней среды. Как эндогенные, так и экзогенные воздействия на старение реализуются через биологические механизмы, одним из которых является модификация

хроматина, на основании которой разработаны так называемые эпигенетические часы [4]. Концепция эпигенетических часов была создана в 2013 г. G. Hannum и соавт. [5] и S. Horvath [6], показавших, что профиль метилирования ДНК является одним из наиболее точных маркеров клеточного старения. Дальнейшие исследования показали, что существует многоуровневая генетически детерминированная программа, реализующаяся с помощью модификации хроматина путем метилирования динуклеотидов CG или CPG-островков ДНК [7]. Эта программа и определяет эпигенетическое старение клеток и организма в целом.

Метилирование CPG-островков в настоящее время считается, пожалуй, наиболее каноническим эпигенетическим признаком старения [8, 9]. Суммарный уровень метилирования ДНК при этом с возрастом может снижаться, однако островки CpG, особенно в генах-мишенях polycomb-бел-

AGING AND “REJUVENATION” OF RESIDENT STEM CELLS — A NEW WAY TO ACTIVE LONGEVITY?

© V.P. Baklaushev^{1, 2, 3}, E.M. Samoilo^{1, 2}, V.A. Kalsin^{1, 2}, G.M. Yusubaliev^{1, 2}

¹ Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

² Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russian Federation

³ Pulmonology Scientific Research Institute under Federal Medical and Biological Agency of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

This review presents the current data on the methodology for assessing the biological and epigenetic age, describes the concept of the epigenetic clock, and characterizes the main types of resident stem cells and the specifics of their aging. It has been shown that age-related changes in organs and tissues, as well as age-related diseases, are largely due to the aging of resident stem cells. The latter represent an attractive target for cell rejuvenation, as they can be isolated, cultured ex vivo, modified, and re-introduced into the resident niches. Two main methodologies for the cellular rejuvenation are presented: genetic reprogramming with «zeroing» the age of a cell using transient expression of transcription factors, and various approaches to epigenetic rejuvenation. The close relationship between aging, regeneration, and oncogenesis, and between these factors and the functioning of resident stem cell niches requires further precision studies, which, we are sure, can result in the creation of an effective anti-aging strategy and prolongation of human active life.

Keywords: resident stem cells; aging; reprogramming; rejuvenation; epigenetic clock.

For citation: Baklaushev VP, Samoilo^{EM}, Kalsin VA, Yusubaliev GM. Aging and “Rejuvenation” of Resident Stem Cells — A New Way to Active Longevity? *Journal of Clinical Practice*. 2022;13(1):79–91. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract104999>

Submitted 16.02.2022

Revised 17.03.2022

Published 31.03.2022

ков, способных ремоделировать хроматин, генов-регуляторов транскрипции, пролиферации и клеточной дифференцировки гиперметируются [10]. Изменения в метилировании CpG, отражающие эпигенетический возраст, можно анализировать с использованием различных подходов, включая полногеномное секвенирование одиночных клеток, позволяющее анализировать метилом в отдельных клетках в различных тканях и изучать их эпигенетические особенности [6, 11–14].

Эпигенетические часы — это регрессионная модель, связывающая изменение профиля метилирования CpG-островков с биологическим возрастом [5, 15]. В последнее десятилетие такие прогностические модели, основанные на уровнях метилирования ДНК (DNAm), создаются на базе машинного обучения, и эта технология поистине произвела революцию в области изучения старения. Эпигенетические часы, построенные на основе метилирования ДНК, в настоящее время лучше оценивают фактический хронологический возраст, чем любые другие транскриптомные и протеомные данные, включая длину теломер [16]. Эпигенетиче-

ские часы, изначально созданные для определения хронологического возраста, теперь могут интегрировать и прогнозировать различные показатели биологического старения и риска заболеваний, что определяет их клиническую значимость [16].

Первые эпигенетические часы были разработаны G. Hannum и соавт. [5] на основе оценки 71 CpG из ДНК мононуклеаров периферической крови. Следующие, более точные во многих аспектах пан-тканевые эпигенетические часы были созданы S. Horvath [6] на основе оценки метилирования 353 CpG в ДНК, полученной из нескольких нормальных и опухолевых тканей. Интересно, что недавно было разработано несколько пан-тканевых часов для млекопитающих, которые могут с впечатляющей точностью определять эпигенетический возраст практически в любой ткани млекопитающих [17].

Истинный биологический возраст определяется под воздействием многих внешних и внутренних факторов, поэтому наиболее современные эпигенетические часы либо специализируются по тканям организма, либо основываются на анализе не только профиля метилирования ДНК, но и различных дру-

гих показателей для более точного определения биологического возраста клеток и скорости старения (например, PhenoAge, GrimAge) [8, 18]. В частности, часы GrimAge помимо анализа профиля метилирования включают определение в сыворотке крови уровня ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) и фактора роста и дифференцировки-15 (GDF15), учет курения и коморбидного состояния, что способствует более точному прогнозу продолжительности и качества жизни [18]. В свете развития регенеративной медицины, эпигенетические часы представляют особый интерес, поскольку эти модели могут обнаруживать даже небольшие изменения биологического возраста в результате различных интервенций, направленных на увеличение продолжительности жизни или перепрограммирование клеток [19].

Недавно разработан новый метод анализа профилей DNAm scAge, позволяющий определить эпигенетический возраст отдельных клеток [20]. Этот метод воспроизводит хронологический возраст ткани в среднем, а также раскрывает внутреннюю эпигенетическую гетерогенность, существующую между клетками. В результате авторы обнаружили, что совокупность нескольких прогнозов по отдельным клеткам дает точный средний показатель возраста конкретной ткани. Эти результаты предполагают высокую гетерогенность процесса старения даже в пределах одной ткани в зависимости от многих эпигенетических факторов, типа и биологических особенностей клеток (стволовые, пролиферирующие, терминально дифференцированные и пр.). Авторы исследования также предположили, что некоторые клетки подвергаются ускоренному или замедленному эпигенетическому старению, что ранее было невозможно установить [20]. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в процессе старения клеток и тканей эпигенетические часы в каждой клетке или группе клеток, вероятно, «тикают» независимо.

«ЖИЗНЬ НЕВОЗМОЖНО ПОВЕРНУТЬ НАЗАД, И ВРЕМЯ НИ НА МИГ НЕ ОСТАНОВИШЬ»?

Сохранение молодости и продление активной жизни всегда было актуально для человечества. Развитие концепции эпигенетических часов позволило на новом уровне исследовать процессы старения как для отдельных клеток и тканей, так и для организма в целом. Обнаружено, что определенные терапевтические воздействия могут изменять показания эпигенетических часов в сто-

рону уменьшения биологического возраста (при неизменном хронологическом) и увеличения предсказанной продолжительности жизни. В частности, в исследовании TRIIM (Thymus Regeneration, Immunorestitution, and Insulin Mitigation) показано, что терапия в течение нескольких месяцев рекомбинантным гормоном роста человека (recombinant human growth hormone, rhGH) вместе с дигидроэпиандростероном (dehydroepiandrosterone, DHEA) и метформинном у практически здоровых мужчин 51–65 лет способствует замедлению старения, что в итоге сопровождается достоверным уменьшением эпигенетического возраста по данным предиктора GrimAge [21].

В недавнем исследовании на крысах [22] с помощью шести различных эпигенетических часов, разработанных на основе данных о метилировании ДНК, было показано, что инфузия компонентов плазмы от молодых крыс старым в течение 5 мес приводит к нормализации биохимических параметров старых крыс, приближая их к показателям молодых животных, при этом эпигенетический возраст крови и тканей печени и сердца уменьшился почти в 3 раза (с возраста 25 мес до возраста 7 мес). Другие показатели клеточного старения, не связанные с эпигенетическими часами, также достоверно уменьшались при переливании компонентов плазмы, что свидетельствовало об эффекте «омоложения».

Несмотря на то, что приведенные выше результаты выглядят весьма впечатляющими, остается дискуссионным вопрос, насколько подобные подходы могут влиять на эпигенетический возраст организма в целом, и не являются ли такие эффекты обратимыми при отмене фармакологической поддержки. Этот вопрос особенно актуален с учетом выраженной гетерогенности процессов старения в различных тканях, что во многом обусловлено особенностями функционирования резидентных стволовых клеток. Именно наличие ниш стволовых клеток определяет регенеративный потенциал органов и тканей, а их функциональное состояние, несомненно, оказывает влияние на эпигенетический возраст. В этой связи старение стволовых клеток, равно как и подходы по их «омоложению», требуют отдельного рассмотрения.

РЕЗИДЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И СТАРЕНИЕ

Регенерация почти всех органов и тканей осуществляется при участии резидентных стволовых клеток (СК), характеризующихся способностью

к самообновлению и дифференцировке в различные клеточные типы за счет асимметричного деления. Первоначально считалось, что СК не подвержены репликативному старению, однако в настоящее время накоплено достаточно данных о том, что они, как и другие клетки, с возрастом накапливают метаболические и генетические повреждения и подвергаются воздействию возрастных эпигенетических факторов [23]. Кроме того, критерием старения органов и тканей является уменьшение доли стволовых клеток в соответствующих нишах [23].

Рассмотрим подробнее старение основных видов стволовых клеток.

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) находятся в костном мозге взрослых млекопитающих и отвечают за кроветворение. В процессе старения ГСК снижается их клональное разнообразие за счет уменьшения интенсивности пролиферации отдельных клонов, что приводит к обеднению клонального состава всех последующих клеточных поколений [24]. Несмотря на то, что общая доля ГСК не изменяется или даже увеличивается, обеднение клонального состава свидетельствует об уменьшении количества функционально активных клонов ГСК [25, 26]. Другой определяющей характеристикой старения ГСК является смещение профиля их дифференцировки в сторону миелоидного ряда за счет уменьшения лимфоидного ряда [27]. Эти данные хорошо согласуются с представлениями об иммунологическом старении, сопровождающемся снижением адаптивного клеточного иммунитета вследствие обеднения репертуара TCR-лимфоцитов [21]. Возрастные изменения, затрагивающие все звенья лимфоидного ростка, и смещение дифференцировки в сторону миелогенеза определяют, в частности, более высокую частоту миелобластных лейкозов у лиц старшего возраста [28, 29]; эти же изменения, вероятно, являются причиной возрастного роста онкологической патологии вообще.

Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (МСК) находятся в костном мозге, жировой ткани и ряде других органов и тканей взрослого человека и дифференцируются во множество клеточных типов, таких как фибробласты, костные, хрящевые, жировые, мышечные клетки и другие клетки стромы, и играют важную роль в регенерации перечисленных тканей [30, 31]. Функциональное старение МСК характеризуется уменьшением их пролиферативной активности и, как следствие, снижением их доли в костном мозге и других тканях, а также снижением их способности

к дифференцировке [32]. Признаки старения МСК включают появление гранулярной морфологии на фоне снижения секреции различных молекул, что называется секреторным фенотипом, связанным со старением, или SASP (senescence-associated secretory phenotype) [33]. Кроме того, старение МСК сопровождается изменениями ядерной морфологии и образованием отчетливой структуры хроматина, называемой гетерохроматическими фокусами, ассоциированными со старением, или SAHF (senescence associated heterochromatic foci) [34]. В настоящее время старение МСК оценивают путем измерения активности β -галактозидазы, длины теломера, маркеров экспрессии генов, метилирования CpG и других эпигенетических маркеров [35].

Стволовые клетки кишечника (СКК) поддерживают регулярное обновление эпителия желудочно-кишечного тракта. Большая часть наших знаний о старении СКК получена из исследований на дрозофиле, где СКК легко идентифицировать по экспрессии фактора транскрипции улиток (Esg) и дельта лиганда Notch (D1). Примечательно, что в процессе старения количество клеток с иммунофенотипом СКК увеличивается в несколько раз, что сопровождается снижением их функции [36, 37]. Это увеличение связывают с нарушением процесса самообновления, сопровождающимся частичной дифференцировкой СКК с сохранением некоторых маркеров стволовых клеток [36]. У млекопитающих существуют две взаимопревращаемые популяции СКК: пролиферативно активные Lgr5-экспрессирующие клетки, локализованные в основании крипты, и покоящиеся стволовые клетки, расположенные над основанием крипты [38]. Эксперименты с гамма-облучением показали, что, хотя кишечник с возрастом становится более чувствительным к повреждению, общее количество клонообразующих единиц увеличивается [39]. Предполагают, что старение СКК человека, сопровождающееся нарушением их самообновления и дифференцировки, является одним из этиологических факторов гиперплазии слизистой кишечника, которая, в свою очередь, приводит к увеличению заболеваемости колоректальным раком с возрастом [40].

Стволовые сателлитные клетки обеспечивают регенерацию поврежденных скелетных мышц [41, 42]. В отличие от ГСК и СКК, количество сателлитных клеток заметно снижается с возрастом [43, 44]. Скорость пролиферации *in vitro* и потенциал приживления и регенерации сателлитных клеток после трансплантации *in vivo* также снижаются

с возрастом [45–47]. Более того, как и ГСК, старые сателлитные клетки демонстрируют искаженный потенциал дифференцировки, в результате чего они дифференцируются в сторону образования фибробластов, а не миобластов, в основном из-за изменений в передаче сигналов Wnt и TGF- β (transforming growth factor beta) [48, 49]. Гетерохронная трансплантация сателлитных клеток от старых мышей к молодым указывает на то, что механизмы, лежащие в основе изменений, в потенциале регенерации сателлитных клеток включают изменения в доступности лигандов суперсемейства Wnt, Notch, FGF (fibroblast growth factors) и TGF- β [48, 50, 51], а также изменения в передаче сигналов цитокинов через путь JAK-STAT (janus kinase, signal transducer and activator of transcription proteins) [52]. Помимо изменений микроокружения, дефекты самообновления, усиление индуцированной стрессом передачи сигналов p38-MAPK связаны со старением самих сателлитных клеток [45, 46], и эти изменения не отменяются после трансплантации в молодую среду [46, 47]. Можно предположить, что необратимые изменения сателлитных клеток лежат в основе старческой саркопении, в разной степени присутствующей у 100% пожилых и престарелых людей.

Нейральные стволовые клетки. Нейрогенез во взрослом мозге млекопитающих происходит на протяжении всей жизни в субвентрикулярной (subventricular zone, SVZ) и субгранулярной (subgranular zone, SGZ) зонах головного мозга [53]. Основные функции нейрогенеза во взрослом мозге — регенерация ольфакторных клеток и образование новых нейронов и глиоцитов в структурах, осуществляющих функционирование памяти и другие когнитивные процессы, поддержание нейрональной пластичности в целом.

Старение — продолжительный и прогрессивный процесс с нарастающими нарушениями гомеостаза, затрагивающими все ниши резидентных стволовых клеток, в том числе в головном мозге [4]. Количество нейральных стволовых клеток (НСК), как и многих других резидентных стволовых клеток взрослого организма, уменьшается с возрастом, что в свою очередь сопровождается снижением уровня нейрогенеза, вплоть до его полной остановки у высших приматов и человека, и, как следствие, ухудшением когнитивных функций. Это связано прежде всего с уменьшением пула пролиферирующих НСК [54].

Новейшие исследования показали, что в процессе старения мозга в SVZ и SGZ происходит

уменьшение общего количества пролиферирующих НСК, имеющих фенотип Nestin + Mcm2+, и увеличение доли покоящихся НСК, имеющих фенотип Nestin + MCM2- и находящихся в состоянии ареста клеточного цикла [55], т.е. снижение нейрогенеза с возрастом может быть обусловлено не только абсолютной убылью НСК, но и переходом НСК в покоящееся состояние вследствие возрастного снижения активирующих сигналов. Состояние покоя для НСК не означает переход в некий анабиоз: с точки зрения активности синтеза белков внеклеточного матрикса и сигнальных молекул, покоящаяся клетка может быть даже более активна, чем пролиферирующая [56]. Кроме того, состояние покоя имеет важное биологическое значение для сохранения пула стволовых клеток на протяжении всей жизни.

В экспериментальных исследованиях обнаружено, что НСК в SVZ старых мышей становятся менее чувствительны к сигналам активации, однако, активировавшись, старые НСК не отличаются от юных по уровню пролиферации и дифференцировки [57]. Возрастные изменения транскриптома активированных старых НСК также не были обнаружены, что позволяет предположить, что старение ниш стволовых клеток в меньшей степени затрагивает покоящиеся на протяжении жизни НСК по сравнению с их окружением. Старение микроокружения ниши стволовых клеток проявляется снижением сывороточного уровня важных сигнальных молекул, таких как инсулин и инсулиноподобный фактор роста (insulin-like growth factor, IGF), снижением секреторной активности хорионидного сплетения, локальным изменением активности сигнальных путей, в частности инактивацией пути Wnt [57], изменением соотношения IGF-1/BMP5, что приводит к увеличению доли покоящихся НСК [56, 57].

С точки зрения развития концепции активного долголетия, вселяет оптимизм тот факт, что функции «старых» НСК могут быть быстро нормализованы до состояния «молодых» при стимуляции *in vitro*. Так, кондиционированная среда от клеток хорионидного сплетения молодых мышей стимулирует пролиферацию старых НСК, и наоборот, среда от клеток хорионидного сплетения старых мышей инактивирует пролиферацию юных НСК вследствие изменения соотношения BMP5 и IGF1 [58]. Эксперименты с гетерохронным парабиозом (объединение кровеносных систем молодых и старых мышей) показали, что перфузия мозга старых мышей кровью молодых приводит к восстановлению уровней IGF-1, GH, Wnt3, TGF- β или GDF11 у старых мышей

до «молодого» уровня, что существенно активирует нейрогенез и когнитивные функции [59–61]. Интересно, что ряд ассоциированных с возрастом факторов так или иначе связан с иммунным ответом и воспалением. Помимо уже упомянутого TGF- β , который наряду с влиянием на нейрогенез является индуктором Т-клеток, отмечается роль β 2-микроглобулина в старении ниш НСК и возрастном ухудшении когнитивных функций [58].

Важные данные были получены при NGS-секвенировании транскриптомов отдельных клеток в стволовых нишах молодых и старых мышей [62]. Это прецизионное исследование обнаружило возрастные изменения транскриптома эндотелиальных клеток и микроглии, а также, что интересно, увеличение Т-клеточной инфильтрации в стареющих нишах стволовых клеток. Обнаруженные в мозге Т-клетки по репертуару Т-клеточных рецепторов отличались от Т-клеток в периферической крови тех же старых мышей, что позволило авторам предположить, что, возможно, они активированы какими-то церебральными антигенами [62]. Т-клетки в старом мозге экспрессировали γ -интерферон, при этом субпопуляции НСК, отвечающие на интерферон, характеризовались сниженным уровнем пролиферации *in vivo*. Эксперименты *in vitro* также показали, что Т-клетки могут ингибировать пролиферацию НСК при кокультивировании, в том числе посредством секреции интерферона. Таким образом, иммунные механизмы могут играть свою особую роль в старении ниш стволовых клеток и в возрастном снижении когнитивных функций [62].

Несмотря на то, что транскриптомные исследования не обнаружили обусловленных возрастом изменений генетической экспрессии в старых НСК, старение затрагивает и непосредственно НСК, что проявляется биохимическими нарушениями, в частности дисфункцией лизосом, проявляющейся нарушением деградации белков и внутриклеточной аккумуляцией белковых агрегатов (в частности β -амилоида при болезни Альцгеймера) [57]. Лизосомальная активность НСК снижается с возрастом, что приводит к аккумуляции белковых агрегатов и потери способности к активации. Стимуляция функции лизосом предотвращает это связанное со старением снижение активности [63].

А. Ibrayeva и соавт. [55] показали, что популяция активированных НСК в зубчатой извилине гиппокампа значительно уменьшается с возрастом, а также обнаружили определенные молекулярные признаки старения, в числе которых было увеличе-

ние экспрессии тирозинкиназы Abl1, являющейся протоонкогеном. Примечательно, что ингибитор Vcr-Abl-тирозинкиназы — противоопухолевый препарат иматиниб может, по мнению авторов, частично восстанавливать функцию стареющих НСК и замедлять процесс их старения.

Изменения в нишах НСК при старении человека гораздо менее изучены, чем аналогичные процессы у лабораторных животных, вместе с тем подавляющее большинство исследователей считает, что взрослый нейрогенез драматически снижается с возрастом, начиная от первого года постнатальной жизни [64–66].

Стволовые клетки кожи. Кожа содержит несколько типов стволовых клеток, включая стволовые клетки базального слоя, обеспечивающие регенерацию эпителия, стволовые клетки волосяных фолликулов (hair follicle stem cells, HFSC), которые поддерживают рост волос, и стволовые клетки меланоцитов, которые генерируют, собственно, меланоциты, продуцирующие пигмент. Волосяные фолликулы проходят через фазы роста, регрессии и покоя. Наиболее выраженное изменение при старении — это увеличение периода покоя, в некоторых случаях — полная остановка роста волос и потеря волосяных фолликулов (алопеция) [67]. Несмотря на естественную убыль волос при старении, количество HFSC не снижается с возрастом [68]. Вместо этого наблюдается потеря их функции, которая лежит в основе удлинения периодов покоя. В отличие от HFSC, количество стволовых клеток меланоцитов в коже с возрастом резко снижается. Это снижение связано не с апоптозом, а с эктопической дифференцировкой и нарушением самообновления стволовых клеток [69]. Ионизирующее излучение и генотоксический стресс усиливают дифференцировку меланоцитов, что, в частности, является основной причиной возрастного поседения волос [70].

Герминальные стволовые клетки. У млекопитающих мужская зародышевая линия поддерживается сперматогониальными стволовыми клетками (spermatogonial stem cells, SSCs), количество которых прогрессивно уменьшается при старении [71, 72]. Несмотря на убыль SSCs, в подавляющем большинстве видов млекопитающих, включая высших приматов, самцы остаются фертильными на протяжении всей жизни. В отличие от самцов, оогенез самок из оогониев в развивающемся яичнике у большинства млекопитающих, за исключением нескольких видов летучих мышей, кустарниковой

собаки и шиншиллы, прекращается до рождения [73, 74]. Некоторые исследователи предположили, что эти виды и даже, возможно, все остальные млекопитающие обладают оогонияльными стволовыми клетками (oogonial stem cells, OSC), способными постнатально генерировать ооциты. OSCs были выделены от мышей и макак-резусов, которые генерируют ооциты *in vitro*, и в случае мышей были использованы для создания трансгенных детенышей [75, 76]. OSCs также были описаны в яичниках взрослых людей, которые могут образовывать подобные ооцитам клетки при трансплантации в ткань яичников [77]. Однако другие группы не нашли доказательств постнатального оогенеза [78] или безуспешно пытались выделить OCS [79].

РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С УМЕНЬШЕНИЕМ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

Экспрессия четырех факторов транскрипции из коктейля Яманака (OCT4, SOX2, KLF4 и c-MYC; OSKM) превращает соматические клетки в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSCs) [80]. Перепрограммирование происходит посредством глобального ремоделирования хроматина, который в конечном итоге возвращает клетку в плюрипотентное состояние, соответствующее эмбриональной стволовой клетке, в том числе по паттерну метилирования ДНК [81]. С одной стороны, это открывает большие перспективы для клеточной терапии: получив аутологичные iPSCs, их можно дифференцировать в нужный клеточный тип и таким образом провести «омоложение» клеток, тканей и органов.

Транскриптомный анализ в формате *single cell* в процессе получения iPSCs позволил обнаружить некоторые интересные закономерности [82–84]. Так, в процессе клеточного репрограммирования выделили две фазы. Стохастическая фаза характеризуется дифференциальной экспрессией генов, участвующих в клеточном цикле (например, *Ccnb1* и *Cdkn2b*), мезенхимально-эпителиальном переходе (например, *Snai1* и *Cdh1*), а также в подавлении генов, связанных с адгезией и дифференцировкой клеток (например, *Col1a1*, *Fbln5* и *Mmp14*) [83]. За этими первоначальными изменениями следует вторая фаза — детерминированная или иерархическая, характеризующаяся прогрессирующей активацией мастер-генов плюрипотентности (*Nanog*, *Oct4*, *Sox2*, *c-Mic*, *Dnmt3L* и др.) [83]. Эпигенетическое ремоделирование начинается уже на первой фазе

репрограммирования и характеризуется модификацией гистонов, таких как H3K4me3 и H3K27me3, за которым следуют изменения профиля метилирования ДНК, в том числе в генах *Nanog*, *Oct4* и *Rex1*.

N. Olova и соавт. [85] показали, что даже при частичном репрограммировании, при котором клетка не достигает состояния плюрипотентности, обнуление возрастных эпигенетических сигнатур происходит в первые 10 дней репрограммирования — в период повышенной активности генов плюрипотентности, ранней экспрессии *NANOG*, *SALL4*, *ZFP42*, *TRA-1-60*, *UTF1*, *DPPA4* и *LEFTY2*. Схожие результаты были продемонстрированы в работе А. Осампо и соавт. [86], в которой авторы с помощью циклической индукции OKSM провели неполное репрограммирование клетки. В результате они показали обнуление эпигенетического возраста до раннего постнатального состояния без потери специализации клетки. Транзиторная экспрессия всего двух трансформирующих факторов из коктейля Яманаки — SOX2 и c-MYC — оказалась достаточной, чтобы полученная в результате популяция клеток по возрастным сигнатурам была сравнима с популяцией, дифференцированной из эмбриональных стволовых клеток [87]. Омоложение репрограммированных клеток было продемонстрировано на уровне измерения теломер [88], омоложения митохондрий и пр. [89, 90]. Таким образом, частичное репрограммирование без достижения плюрипотентной стадии может быть способом эпигенетического омоложения клеток и тканей.

В литературе описаны способы репрограммирования с получением iPSCs *in vivo* в экспериментах на мышах [91], что теоретически делает возможным выполнение частичного репрограммирования с «омолаживающим» эффектом *in vivo*. Так, показано, что циклическая экспрессия факторов Яманаки может увеличивать продолжительность жизни прогероидных мышей (*progeria mice*) и улучшать клеточную функцию у мышей дикого типа [86]. Альтернативный подход к репрограммированию *in vivo* продемонстрировал обратимость связанных со старением изменений в ганглиозных клетках сетчатки и возможность восстановления зрения на модели глаукомы на мышах [19]. Совсем недавно было показано, что транзиторная экспрессия транскрипционных факторов *in vitro* обращает вспять старение фибробластов и хондроцитов человека, включая обратные изменения эпигенетических часов, уменьшение экспрессии провоспалительных генов и «омоложение» регенеративного потенциала [92].

На сервисе bioRxiv доступна совсем недавняя публикация D. Gill и соавт. [93], которые заявляют, что разработали беспрецедентную технологию омоложения с помощью транзиторной экспрессии транскрипционных факторов, позволяющую омолаживать человеческие фибробласты на 30 лет. Технология, названная MPTR (от англ. Maturation Phase Transient Reprogramming) включает трансфекцию полицистронной кассеты с генами *Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc* и *GFP* под контролем доксициклинового промотора. Гены экспрессировались эктопически до достижения фазы созревания, после чего экспрессию выключали. Показано, что MPTR значительно омолаживает все измеренные молекулярные признаки старения, включая профиль метилирования, без потери исходного клеточного фенотипа.

Перечисленные выше исследования позволяют предполагать, что в будущем станет возможной технология «омоложения» стволовых клеток *ex vivo* с последующей их трансплантацией в резидентные стволовые ниши, в результате чего, вероятно, будет происходить кардинальное омоложение органов и тканей.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОМОЛОЖЕНИЮ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Рассмотрим подходы к омоложению стволовых клеток на примере МСК как одного из наиболее исследованных в регенеративной медицине видов стволовых клеток. Особый интерес к МСК связан с тем, что наряду с доступностью и относительной простотой наработки (propagation) [94] МСК обладают значительным паракринным терапевтическим потенциалом, что в сумме обусловило их широкое клиническое применение [95, 96]. Эффективность МСК показана при лечении различных заболеваний, включая болезнь трансплантат против хозяина [97], болезнь Крона [98], сахарный диабет [99], рассеянный склероз [100], инфаркт миокарда [101] и др. Как мы уже отмечали, функциональная активность МСК значительно снижается с возрастом. В попытке «омоложения» МСК предпринимались различные генетические модификации, обработка микроРНК и некодирующими РНК [102], preconditionирование в условиях гипоксии или в присутствии различных цитокинов и пр. [102, 104]. Многие исследователи применяют МСК в качестве объекта частичного репрограммирования факторами плюрипотентности, так как описано в предыдущем разделе [104–107].

C. Liang с соавт. [108] показали, что дефицит гена *CLOCK* ускоряет старение hMSC, тогда как сверхэкспрессия *CLOCK* даже в транскрипционно неактивной форме омолаживает старые hMSC. Опираясь на идею, что *CLOCK* образуют комплексы с белками ядерной мембраны и KRAB-ассоциированным белком 1 (KAP1) и таким образом стабилизируют гетерохроматин, авторы с помощью редактирования генома *CRISPR/Cas9* повысили уровень экспрессии *CLOCK* в стареющих MSC, что привело к их омоложению и способствовало регенерации хряща у мышей.

В недавнем исследовании H. Jiao и соавт. [109] выполняли транскриптомный анализ обычных МСК и «омоложенных» МСК, проведенных через стадию плюрипотентности. Обнаружено, что в последних снижен уровень экспрессии GATA-связывающего белка 6 (GATA6), экспрессия которого ассоциирована с развитием некоторых видов химио-резистентных карцином поджелудочной железы [110]. Уровень экспрессии GATA6 обратно коррелирует с активностью сигнального пути SHH (sonic hedgehog) и уровнем экспрессии forkhead box P1 (FOXP1), про который известно, что он замедляет старение МСК [111]. Таким образом, был сделан вывод, что нокаут GATA6 может быть применен для омоложения МСК *ex vivo*.

Недавно L. Deng и соавт. [112] получили экспериментальную модель синдрома Ди Георга (DiGeorge) на МСК с дефицитом критической области 8 (DiGeorge syndrome critical region 8, DGCR8) с фенотипом ускоренного старения. DGCR8 поддерживает организацию гетерохроматина, взаимодействуя с белком ядерной оболочки Lamin B1 и ассоциированными с гетерохроматином KAP1 и гетерохроматиновым белком 1 (heterochromatin protein 1, HP1), регулируя таким образом старение МСК. Аналогичным образом было обнаружено, что yes-ассоциированный белок (YAP) также играет важную роль в замедлении старения. L. Fu и соавт. [111] генерировали YAP-дефицитные МСК с фенотипом преждевременного клеточного старения и обнаружили, что YAP кооперируется с транскрипционным фактором домена TEA (TEAD), чтобы активировать антиэйджинговый фактор FOXD1.

X. Ren и соавт. [113] получили CBX4-дефицитные МСК и показали, что CBX4 противодействует старению МСК через поддержание ядрышкового гомеостаза за счет рекрутирования ядерного белка фибрилларина и компонента гетерохроматина KAP1 к ядрышковой рДНК для ее стабилизации,

тем самым ограничивая чрезмерную экспрессию рРНК и замедляя клеточное старение. Генная терапия с помощью лентивирусной трансдукции гена *DGCR8* эффективно ослабляет старение МСК, о чем свидетельствовало подавление маркеров клеточного старения и факторов воспаления [112]. По аналогии, опосредованный лентивирусом перенос генов *YAP*, *FOXD1* или *CBX4* также омолаживает старые МСК [110, 113]. Таким образом, коррекция экспрессии определенных генов в резидентных стволовых клетках может привести к их омоложению, что в свою очередь может способствовать активации репарации и омоложению соответствующей ткани организма.

Несколько исследований были направлены на изучение эпигенетической модуляции стареющих МСК. Как мы уже отмечали выше, старение сопровождается селективным метилированием GPG-островков ДНК. Действительно, было обнаружено, что экспрессия ряда ДНК-метилтрансфераз увеличивается во время репликативного старения и коррелирует с гиперметилированием CGP в старых МСК [114]. Выключение метилирования ДНК с помощью ингибитора ДНК-метилтрансфераз 5-азациитидина, обращает вспять стареющий фенотип МСК. При этом наблюдается снижение накопления активных форм кислорода (АФК), улучшение активности супероксиддисмутазы и увеличения соотношения BCL-2/BAX [115].

Несколько исследований показали, что старение МСК можно обратить вспять путем модуляции генерации АФК и активации антиоксидантных систем. Было показано, что аскорбиновая кислота ингибирует производство АФК за счет активации передачи сигналов АКТ/mTOR в МСК [116]. Другая группа показала, что железосодержащий белок лактоферрин ингибирует продукцию АФК, индуцированную перекисью водорода, и подавляет активацию каспазы-3 и АКТ [117]. МСК, предварительно обработанные природным антиоксидантом растительного происхождения, полученного из *Cirsium setidens*, могут ингибировать продукцию АФК и снижать экспрессию фосфорилированной митоген-активированной протеинкиназы p38, N-концевой киназы c-Jun и p53 [118].

Нарушение функции митохондрий часто рассматривается как типичный признак стареющих клеток. Мелатонин может замедлить старение МСК за счет активации митохондриальной функции посредством вовлечения 70 кДа белка 1L теплового шока (HSPA1L) [119]. Известно, что

HSPA1L связывается с COX4IA, белком митохондриального комплекса IV, что приводит к увеличению потенциала митохондриальной мембраны и активности антиоксидантных ферментов [119]. Снижение карнитин пальмитоилтрансферазы 1A (CPT1A) также активирует митохондриальное дыхание и обращает вспять старение МСК [120]. Аналогичным образом было показано, что повышение уровня FGF21 улучшает функцию митохондрий, омолаживая стареющие МСК, повышая митохондриальную динамику [121].

Немало исследований в регенеративной медицине посвящено применению экзосом, содержащих различные биологически активные вещества, как от МСК, так и от других типов стволовых клеток. В ряде исследований экзосомы применены в том числе и для омоложения клеток. Так, внеклеточные везикулы, полученные из эмбриональных стволовых клеток (ESC-Exos), использовали в качестве фактора омоложения МСК и показали, что омолаживающий эффект опосредован через активацию сигнального пути IGF1 [122]. Также было продемонстрировано, что использование ESC-Exos омолаживает эндотелиальные клетки, усиливает ангиогенез, снижает уровень АФК и способствует регенерации пролежней у стареющих мышей [123, 124]. Применение экзосом, в отличие от репрограммированных клеток, не сопровождается никакими онкологическими рисками и поэтому представляется весьма перспективным и интересным направлением в антиэйджинге.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Старение — сложный генетически детерминированный процесс, реализация которого имеет свои особенности как на клеточном уровне в покоящихся, пролиферирующих, дифференцированных и стволовых клетках, так и на органном и организменном уровнях. Такой большой «оркестр», каким является организм млекопитающего, для синхронизации процессов старения и адекватного включения генетических программ в ответ на внешние факторы старения в клетках, органах и тканях не может не иметь общего «дирижера». На эту роль может претендовать генетически регулируемая система метилирования ДНК, составляющая основу эпигенетических часов. Старение органов и тканей во многом обусловлено возрастными изменениями резидентных стволовых клеток. Последние представляют собой привлекательную мишень для клеточного омоло-

жения, поскольку могут быть отобраны, культивированы *ex vivo*, модифицированы и вновь возвращены в резидентные ниши. Можно предполагать, что омоложение столовых клеток с уменьшением их эпигенетического возраста может способствовать ювенилизации соответствующих органов и тканей.

Тесная взаимосвязь старения, регенерации и онкогенеза между собой и с функционированием ниш резидентных стволовых клеток требует дальнейших прецизионных исследований, результатом которых, мы уверены, станет создание эффективной стратегии антиэйджинга и продление активной жизни человека.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. В.П. Баклашев — концепция обзора, написание и редактирование рукописи; Е.М. Самойлова — сбор материала, написание и редактирование рукописи; В.А. Кальсин, Г.М. Юсубалиева — сбор материала, редактирование рукописи. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Author contribution. V.P. Baklaushev — review concept, manuscript writing and editing; E.M. Samoylova — collection of material, manuscript writing and editing; V.A. Kalsin, G.M. Yusubaliev — collection of material, manuscript editing. The authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания ФМБА России (шифр «Репрограммирование»).

Funding source. The work was carried out within the framework of the state task of the FMBA of Russia (code “Reprogramming”).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Atlantis E, Martin SA, Haren MT, et al.; Florey Adelaide Male Aging Study. Lifestyle factors associated with age-related differences in body composition: the Florey Adelaide Male Aging Study. *Am J Clin Nutr*. 2008;88(1):95–104. doi: 10.1093/ajcn/88.1.95
- Haynes L, Maue AC. Effects of aging on T cell function. *Curr Opin Immunol*. 2009;21(4):414–417. doi: 10.1016/j.coi.2009.05.009
- Samson RD, Barnes CA. Impact of aging brain circuits on cognition. *Eur J Neurosci*. 2013;37(12):1903–1915. doi: 10.1111/ejn.12183
- Samoilova EM, Belopasov VV, Ekusheva EV, et al. Epigenetic clock and circadian rhythms in stem cell aging and rejuvenation. *J Pers Med*. 2021;(11):1050. doi: 10.3390/jpm11111050
- Hannum G, Guinney J, Zhao L, et al. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol Cell*. 2013;49(2):359–367. doi: 10.1016/j.molcel.2012.10.016
- Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types [published correction appears in *Genome Biol*. 2015;16:96]. *Genome Biol*. 2013;14(10):R115. doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115
- Field AE, Robertson NA, Wang T, et al. DNA methylation clocks in aging: categories, causes, and consequences. *Mol Cell*. 2018;71(6):882–895. doi: 10.1016/j.molcel.2018.08.008
- Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet*. 2018;19(6):371–384. doi: 10.1038/s41576-018-0004-3
- López-Otin C, Blasco MA, Partridge L, et al. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194–1217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039
- Teschendorff AE, Menon U, Gentry-Maharaj A, et al. Age-dependent DNA methylation of genes that are suppressed in stem cells is a hallmark of cancer. *Genome research*. 2010;20(4):440–446. doi: 10.1101/gr.103606.109
- Lister R, Pelizzola M, Dowen RH, et al. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*. 2009;462(7271):315–322. doi: 10.1038/nature08514
- Rose NR, Klose RJ. Understanding the relationship between DNA methylation and histone lysine methylation. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1839(12):1362–1372. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.02.007
- Reddington JP, Perricone SM, Nestor CE, et al. Redistribution of H3K27me3 upon DNA hypomethylation results in de-repression of Polycomb target genes. *Genome Biology*. 2013;14(3):R25. doi: 10.1186/gb-2013-14-3-r25
- Berger SL, Sassone-Corsi P. Metabolic signaling to chromatin. *Cold Spring Harb. Perspect Biol*. 2016;8(11):1–63. doi: 10.1101/cshperspect.a019463
- Bocklandt S, Lin W, Sehl ME, et al. Epigenetic predictor of age. *PLoS One*. 2011;6(6):e14821. doi: 10.1371/journal.pone.0014821
- Levine ME, Lu AT, Quach A, et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging*. 2018;10(4):573–591. doi: 10.18632/aging.101414
- Consortium MM, Lu AT, Fei Z, et al. Universal DNA methylation age across mammalian tissues. *BioRxiv*. 2021. doi: 2021.01.18.426733
- Lu AT, Quach A, Wilson JG, et al. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging*. 2019;11(2):303–327. doi: 10.18632/aging.101684
- Lu Y, Brommer B, Tian X, et al. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature*. 2020;588(7836):124–129. doi: 10.1038/s41586-020-2975-4
- Trapp A, Kerepesi C, Gladyshev VN. Profiling epigenetic age in single cells. *BioRxiv*. 2021. doi: 10.1101/2021.03.13.435247
- Fahy GM, Brooke RT, Watson JP, et al. Reversal of epigenetic aging and immunosenescent trends in humans. *Aging Cell*. 2019;18(6):e13028. doi: 10.1111/ace1.13028
- Horvath S, Singh K, Raj K, et al. Reversing age: dual species measurement of epigenetic age with a single clock. *BioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.05.07.082917
- Schultz MB, Sinclair DA. When stem cells grow old: phenotypes and mechanisms of stem cell aging. *Development*. 2016;143(1):3–14. doi: 10.1242/dev.130633
- Dykstra B, Olthof S, Schreuder J, et al. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine

- hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 2011;208(13):2691–2703. doi: 10.1084/jem.20111490
25. Beerman I, Bhattacharya D, Zandi S, et al. Functionally distinct hematopoietic stem cells modulate hematopoietic lineage potential during aging by a mechanism of clonal expansion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(12):5465–5470. doi: 10.1073/pnas.1000834107
 26. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2488–2498. doi: 10.1056/NEJMoa1408617
 27. Rossi DJ, Bryder D, Zahn JM, et al. Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(26):9194–9199. doi: 10.1073/pnas.0503280102
 28. Linton PJ, Dorshkind K. Age-related changes in lymphocyte development and function. *Nat Immunol*. 2004;5(2):133–139. doi: 10.1038/ni1033
 29. Lichtman MA, Rowe JM. The relationship of patient age to the pathobiology of the clonal myeloid diseases. *Semin Oncol*. 2004;31(2):185–197. doi: 10.1053/j.seminoncol.2003.12.029
 30. Mareschi K, Ferrero I, Rustichelli D, et al. Expansion of mesenchymal stem cells isolated from pediatric and adult donor bone marrow. *J Cell Biochem*. 2006;97(4):744–754. doi: 10.1002/jcb.20681
 31. Musina RA, Bekchanova ES, Sukhikh GT. Comparison of mesenchymal stem cells obtained from different human tissues. *Bull Exp Biol Med*. 2005;139(4):504–509. doi: 10.1007/s10517-005-0331-1
 32. Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem*. 1997;64(2):278–294. doi: 10.1002/(sici)1097-4644(199702)64:2<278::aid-jcb11>3.0.co;2-f
 33. Watanabe S, Kawamoto S, Ohtani N, Hara E. Impact of senescence-associated secretory phenotype and its potential as a therapeutic target for senescence-associated diseases. *Cancer Sci*. 2017;108(4):563–569. doi: 10.1111/cas.13184
 34. Noren HN, Evans MK. Techniques to induce and quantify cellular senescence. *J Vis Exp*. 2017;(123):55533. doi: 10.3791/55533
 35. Zhai W, Yong D, El-Jawhari JJ, et al. Identification of senescent cells in multipotent mesenchymal stromal cell cultures: current methods and future directions. *Cytotherapy*. 2019;21(8):803–819. doi: 10.1016/j.jcyt.2019.05.001
 36. Biteau B, Hochmuth CE, Jasper H. JNK activity in somatic stem cells causes loss of tissue homeostasis in the aging *Drosophila* gut. *Cell Stem Cell*. 2008;3(4):442–455. doi: 10.1016/j.stem.2008.07.024
 37. Choi NH, Kim JG, Yang DJ, et al. Age-related changes in *Drosophila* midgut are associated with PVF2, a PDGF/VEGF-like growth factor. *Aging Cell*. 2008;7(3):318–334. doi: 10.1111/j.1474-9726.2008.00380.x
 38. Takeda N, Jain R, LeBoeuf MR, et al. Interconversion between intestinal stem cell populations in distinct niches. *Science*. 2011;334(6061):1420–1424. doi: 10.1126/science.1213214
 39. Martin K, Potten CS, Roberts SA, Kirkwood TB. Altered stem cell regeneration in irradiated intestinal crypts of senescent mice. *J Cell Sci*. 1998;111(Pt 16):2297–2303.
 40. Merlos-Suárez A, Barriga FM, Jung P, et al. The intestinal stem cell signature identifies colorectal cancer stem cells and predicts disease relapse. *Cell Stem Cell*. 2011;8(5):511–524. doi: 10.1016/j.stem.2011.02.020
 41. Sherwood RI, Christensen JL, Conboy IM, et al. Isolation of adult mouse myogenic progenitors: functional heterogeneity of cells within and engrafting skeletal muscle. *Cell*. 2004;119(4):543–554. doi: 10.1016/j.cell.2004.10.021
 42. Beauchamp JR, Morgan JE, Pagel CN, Partridge TA. Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *J Cell Biol*. 1999;144(6):1113–1122. doi: 10.1083/jcb.144.6.1113
 43. Brack AS, Bildsoe H, Hughes SM. Evidence that satellite cell decrement contributes to preferential decline in nuclear number from large fibres during murine age-related muscle atrophy. *J Cell Sci*. 2005;118(Pt 20):4813–4821. doi: 10.1242/jcs.02602
 44. Collins CA, Zammit PS, Ruiz AP, et al. A population of myogenic stem cells that survives skeletal muscle aging. *Stem Cells*. 2007;25(4):885–894. doi: 10.1634/stemcells.2006-0372
 45. Bernet JD, Doles JD, Hall JK, et al. p38 MAPK signaling underlies a cell-autonomous loss of stem cell self-renewal in skeletal muscle of aged mice. *Nat Med*. 2014;20(3):265–271. doi: 10.1038/nm.3465
 46. Cosgrove BD, Gilbert PM, Porpiglia E, et al. Rejuvenation of the muscle stem cell population restores strength to injured aged muscles. *Nat Med*. 2014;20(3):255–264. doi: 10.1038/nm.3464
 47. Sousa-Victor P, Gutarra S, García-Prat L, et al. Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature*. 2014;506(7488):316–321. doi: 10.1038/nature13013
 48. Brack AS, Conboy MJ, Roy S, et al. Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. *Science*. 2007;317(5839):807–810. doi: 10.1126/science.1144090
 49. Carlson ME, Conboy MJ, Hsu M, et al. Relative roles of TGF- β 1 and WNT in the systemic regulation and aging of satellite cell responses. *Aging Cell*. 2009;8(6):676–689. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00517.x
 50. Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM, Rando TA. Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. *Science*. 2003;302(5650):1575–1577. doi: 10.1126/science.1087573
 51. Sinha M, Jang YC, Oh J, et al. Restoring systemic GDF11 levels reverses age-related dysfunction in mouse skeletal muscle. *Science*. 2014;344(6184):649–652. doi: 10.1126/science.1251152
 52. Price FD, von Maltzahn J, Bentzinger CF, et al. Inhibition of JAK-STAT signaling stimulates adult satellite cell function [published correction appears in *Nat Med*. 2014 Oct;(10):1217]. *Nat Med*. 2014;20(10):1174–1181. doi: 10.1038/nm.3655
 53. Jurkowski MP, Bettio LK, Woo E, et al. Beyond the hippocampus and the SVZ: adult neurogenesis throughout the brain. *Front Cell Neurosci*. 2020;14:576444. doi: 10.3389/fncel.2020.576444
 54. Basak O, Krieger TG, Muraro MJ, et al. Troy+ brain stem cells cycle through quiescence and regulate their number by sensing niche occupancy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018;115(4):E610–E619. doi: 10.1073/pnas.1715911114
 55. Ibrayeva A, Bay M, Pu E, et al. Early stem cell aging in the mature brain. *Cell Stem*. 2021;28(5):955–966.e7. doi: 10.1016/j.stem.2021.03.018
 56. Urbán N, Blomfield IM, Guillemot F. Quiescence of adult mammalian neural stem cells: a highly regulated rest. *Neuron*. 2019;104(5):834–848. doi: 10.1016/j.neuron.2019.09.026
 57. Kalamakis G, Brüne D, Ravichandran S, et al. Quiescence modulates stem cell maintenance and regenerative capacity in the aging brain. *Cell*. 2019;176(6):1407–1419.e14. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.040
 58. Smith LK, He Y, Park JS, et al. β 2-Microglobulin is a systemic pro-aging factor that impairs cognitive function and neurogenesis. *Nat Med*. 2015;21:932–937.
 59. Pineda JR, Daynac M, Chichestre A, et al. Vascular-derived TGF- β increases in the stem cell niche and perturbs neurogenesis during aging and following irradiation in the adult mouse brain. *EMBO Mol Med*. 2013;5(4):548–562. doi: 10.1002/emmm.201202197
 60. Villeda SA, Plambeck KE, Middeldorp J, et al. Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice. *Nat Med*. 2014;20(6):659–663. doi: 10.1038/nm.3569
 61. Okamoto M, Inoue K, Iwamura H, et al. Reduction in paracrine Wnt3 factors during aging causes impaired adult neurogenesis. *FASEB J*. 2011;25(10):3570–3582. doi: 10.1096/fj.11-184697
 62. Dulken BW, Buckley MT, Navarro NP, et al. Single-cell analysis reveals T cell infiltration in old neurogenic niches. *Nature*. 2019;571(7764):205–210. doi: 10.1038/s41586-019-1362-5
 63. Leeman DS, Hebestreit K, Ruetz T, et al. Lysosome activation clears aggregates and enhances quiescent neural stem cell activation during aging. *Science*. 2018;359(6381):1277–1283. doi: 10.1126/science.aag3048
 64. Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, et al. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell*. 2013;153(6):1219–1227. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.002
 65. Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, et al. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. *Nature*. 2018;555(7696):377–381. doi: 10.1038/nature25975

66. Dennis CV, Suh LS, Rodriguez ML, et al. Human adult neurogenesis across the ages: an immunohistochemical study. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2016;42(7):621–638. doi: 10.1111/Neu.12337
67. Keyes BE, Segal JP, Heller E, et al. Nfatc1 orchestrates aging in hair follicle stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(51):E4950–E4959. doi: 10.1073/pnas.1320301110
68. Rittié L, Stoll SW, Kang S, et al. Hedgehog signaling maintains hair follicle stem cell phenotype in young and aged human skin. *Aging Cell.* 2009;8(6):738–751. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00526.x
69. Nishimura EK. Melanocyte stem cells: a melanocyte reservoir in hair follicles for hair and skin pigmentation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011;24(3):401–410. doi: 10.1111/j.1755-148X.2011.00855.x
70. Inomata K, Aoto T, Binh NT, et al. Genotoxic stress abrogates renewal of melanocyte stem cells by triggering their differentiation. *Cell.* 2009;137(6):1088–1099. doi: 10.1016/j.cell.2009.03.037
71. Paul C, Nagano M, Robaire B. Aging results in molecular changes in an enriched population of undifferentiated rat spermatogonia. *Biol Reprod.* 2013;89(6):147. doi: 10.1095/biolreprod.113.112995
72. Zhang X, Ebata KT, Robaire B, Nagano MC. Aging of male germ line stem cells in mice. *Biol Reprod.* 2006;74(1):119–124. doi: 10.1095/biolreprod.105.045591
73. Antonio-Rubio NR, Porras-Gómez TJ, Moreno-Mendoza N. Identification of cortical germ cells in adult ovaries from three phyllostomid bats: *artibeus jamaicensis*, *glossophaga soricina* and *sturnira lilium*. *Reprod Fertil Dev.* 2013;25(5):825–836. doi: 10.1071/RD12126
74. Inserra PI, Leopardo NP, Willis MA, et al. Quantification of healthy and atretic germ cells and follicles in the developing and post-natal ovary of the South American plains vizcacha, *lagostomus maximus*: evidence of continuous rise of the germinal reserve. *Reproduction.* 2013;147(2):199–209. doi: 10.1530/REP-13-0455
75. Hernandez SF, Vahidi NA, Park S, et al. Characterization of extracellular DDX4- or Ddx4-positive ovarian cells. *Nat Med.* 2015;21(10):1114–1116. doi: 10.1038/nm.3966
76. Zhang Y, Yang Z, Yang Y, et al. Production of transgenic mice by random recombination of targeted genes in female germline stem cells. *J Mol Cell Biol.* 2011;3(2):132–141. doi: 10.1093/jmcb/mjq043
77. White YA, Woods DC, Takai Y, et al. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nat Med.* 2012;18(3):413–421. doi: 10.1038/nm.2669
78. Zhang H, Liu L, Li X, et al. Life-long in vivo cell-lineage tracing shows that no oogenesis originates from putative germline stem cells in adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(50):17983–17988. doi: 10.1073/pnas.1421047111
79. Zhang H, Panula S, Petropoulos S, et al. Adult human and mouse ovaries lack DDX4-expressing functional oogonial stem cells. *Nat Med.* 2015;21(10):1116–1118. doi: 10.1038/nm.3775
80. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006;126(4):663–676. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024
81. Samoylova EM, Baklaushev VP. Cell reprogramming preserving epigenetic age: advantages and limitations. *Biochemistry (Moscow).* 2020;85(9):1035–1047. doi: 10.1134/S0006297920090047
82. Buganim Y, Faddah DA, Cheng AW, et al. Single-cell expression analyses during cellular reprogramming reveal an early stochastic and a late hierarchic phase. *Cell.* 2012;150(6):1209–1222. doi: 10.1016/j.cell.2012.08.023
83. Polo JM, Anderssen E, Walsh RM, et al. A molecular roadmap of reprogramming somatic cells into iPSC cells. *Cell.* 2012;151(7):1617–1632. doi: 10.1016/j.cell.2012.11.039
84. Hansson J, Rafiee MR, Reiland S, et al. Highly coordinated proteome dynamics during reprogramming of somatic cells to pluripotency. *Cell Rep.* 2012;2(6):1579–1592. doi: 10.1016/j.celrep.2012.10.014
85. Olova N, Simpson DJ, Marioni RE, Chandra T. Partial reprogramming induces a steady decline in epigenetic age before loss of somatic identity. *Aging Cell.* 2019;18(1):e12877. doi: 10.1111/acel.12877
86. Ocampo A, Reddy P, Martinez-Redondo P, et al. In vivo amelioration of age-associated hallmarks by partial reprogramming. *Cell.* 2016;167(7):1719–1733.e12. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.052
87. Sheng C, Jungverdorben J, Wiethoff H, et al. A stably self-renewing adult blood-derived induced neural stem cell exhibiting patternability and epigenetic rejuvenation. *Nature Com.* 2018; 9(1):4047. doi: 10.1038/s41467-018-06398-5
88. Marion RM, Strati K, Li H, et al. Telomeres acquire embryonic stem cell characteristics in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 2009;4(2):141–154. doi: 10.1016/j.stem.2008.12.010
89. Prigione A, Fauler B, Lurz R, et al. The senescence-related mitochondrial/oxidative stress pathway is repressed in human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells.* 2010;28(4):721–733. doi: 10.1002/stem.404
90. Suhr ST, Chang EA, Tjong J, et al. Mitochondrial rejuvenation after induced pluripotency. *PLoS One.* 2010;5(11):e14095. doi: 10.1371/journal.pone.0014095
91. Abad M, Mosteiro L, Pantoja C, et al. Reprogramming in vivo produces teratomas and iPSC cells with totipotency features. *Nature.* 2013;502(7471):340–345. doi: 10.1038/nature12586
92. Sarkar TJ, Quarta M, Mukherjee S, et al. Transient non-integrative expression of nuclear reprogramming factors promotes multifaceted amelioration of aging in human cells. *Nat Commun.* 2020;11(1):1545. doi: 10.1038/s41467-020-15174-3
93. Gill D, Parry A, Santos F, et al. Multi-omic rejuvenation of human cells by maturation phase transient reprogramming. *BioRxiv.* 2021.01.15.426786. doi: 10.1101/2021.01.15.426786
94. Mareschi K, Ferrero I, Rustichelli D, et al. Expansion of mesenchymal stem cells isolated from pediatric and adult donor bone marrow. *J Cell Biochem.* 2006;97(4):744–754. doi: 10.1002/jcb.20681
95. Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *J Transl Med.* 2014;12:260. doi: 10.1186/s12967-014-0260-8
96. Childs BG, Li H, van Deursen JM. Senescent cells: a therapeutic target for cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2018; 128(4):1217–1228. doi: 10.1172/JCI95146
97. Landgraf K, Brunauer R, Lepperdinger G, Grubeck-Loebenstein B. The suppressive effect of mesenchymal stromal cells on T cell proliferation is conserved in old age. *Transpl Immunol.* 2011;25(2-3):167–172. doi: 10.1016/j.trim.2011.06.007
98. Zhang J, Lv S, Liu X, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell treatment for Crohn's disease: a randomized controlled clinical trial. *Gut Liver.* 2018;12(1):73–78. doi: 10.5009/gnl17035
99. Al Demour S, Jafar H, Adwan S, et al. Safety and potential therapeutic effect of two intracavernous autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells injections in diabetic patients with erectile dysfunction: an open label phase I clinical trial. *Urol Int.* 2018;101(3):358–365. doi: 10.1159/000492120
100. Iacobaeus E, Kadri N, Lefsihane K, et al. Short and long term clinical and immunologic follow up after bone marrow mesenchymal stromal cell therapy in progressive multiple sclerosis-A phase I study. *J Clin Med.* 2019;8(12):2102. doi: 10.3390/jcm8122102
101. Gyöngyösi M, Wojakowski W, Lemarchand P, et al. Meta-Analysis of Cell-based CaRdiac stUdiEs (ACCRUE) in patients with acute myocardial infarction based on individual patient data. *Circ Res.* 2015;116(8):1346–1360. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304346
102. Abdelmohsen K, Gorospe M. Noncoding RNA control of cellular senescence. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2015;6(6):615–629. doi: 10.1002/wrna.1297
103. Ocansey DK, Pei B, Yan Y, et al. Improved therapeutics of modified mesenchymal stem cells: an update. *J Transl Med.* 2020;18(1):42. doi: 10.1186/s12967-020-02234-x
104. Zhou X, Hong Y, Zhang H, Li X. Mesenchymal stem cell senescence and rejuvenation: current status and challenges. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:364. doi: 10.3389/fcell.2020.00364
105. Spitzhorn LS, Megges M, Wruock W, et al. Human iPSC-derived MSCs (iMSCs) from aged individuals acquire a rejuvenation signature. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):100. doi: 10.1186/s13287-019-1209-x
106. Göbel C, Goetzke R, Eggermann T, Wagner W. Interrupted reprogramming into induced pluripotent stem cells

does not rejuvenate human mesenchymal stromal cells. *Sci Rep.* 2018;8(1):11676. doi: 10.1038/s41598-018-30069-6

107. Fernandez-Rebollo E, Franzen J, Goetzke R, et al. Senescence-associated metabolomic phenotype in primary and iPSC-derived mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Reports.* 2020;14(2):201–209. doi: 10.1016/j.stemcr.2019.12.01

108. Liang C, Liu Z, Song M, et al. Stabilization of heterochromatin by CLOCK promotes stem cell rejuvenation and cartilage regeneration. *Cell Res.* 2021;31(2):187–205. doi: 10.1038/s41422-020-0385-7

109. Jiao H, Walczak BE, Lee MS, et al. GATA6 regulates aging of human mesenchymal stem/stromal cells. *Stem Cells.* 2021; 39(1):62–77. doi: 10.1002/stem.3297

110. O’Kane GM, Grünwald BT, Jang GH, et al. GATA6 expression distinguishes classical and basal-like subtypes in advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(18): 4901–4910. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3724

111. Fu L, Hu Y, Song M, et al. Up-regulation of FOXD1 by YAP alleviates senescence and osteoarthritis. *PLoS Biol.* 2019; 17(4):e3000201. doi: 10.1371/journal.pbio.3000201

112. Deng L, Ren R, Liu Z, et al. Stabilizing heterochromatin by DGCR8 alleviates senescence and osteoarthritis. *Nat Commun.* 2019;10(1):3329. doi: 10.1038/s41467-019-10831-8

113. Ren X, Hu B, Song M, et al. Maintenance of nucleolar homeostasis by CBX4 alleviates senescence and osteoarthritis. *Cell Rep.* 2019;26(13):3643–3656.e7. doi: 10.1016/j.celrep.2019.02.088

114. So AY, Jung JW, Lee S, et al. DNA methyltransferase controls stem cell aging by regulating BMI1 and EZH2 through microRNAs. *PLoS One.* 2011;6(5):e19503. doi: 10.1371/journal.pone.0019503

115. Kornicka K, Marycz K, Marędzia M, et al. The effects of the DNA methyltransferase inhibitor 5-Azacytidine on ageing, oxidative stress and DNA methylation of adipose derived stem cells. *J Cell Mol Med.* 2017;21(2):387–401. doi: 10.1111/jcmm.12972

116. Yang M, Teng S, Ma C, et al. Ascorbic acid inhibits senescence in mesenchymal stem cells through ROS and AKT/mTOR signaling. *Cytotechnology.* 2018;70(5):1301–1313. doi: 10.1007/s10616-018-0220-x

117. Park SY, Jeong AJ, Kim GY, et al. Lactoferrin protects human mesenchymal stem cells from oxidative stress-induced senescence and apoptosis. *J Microbiol Biotechnol.* 2017;27(10):1877–1884. doi: 10.4014/jmb.1707.07040

118. Lee JH, Jung HK, Han YS, et al. Antioxidant effects of Cirsium setidens extract on oxidative stress in human mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep.* 2016;14(4):3777–3784. doi: 10.3892/mmr.2016.5706

119. Lee JH, Yoon YM, Song KH, et al. Melatonin suppresses senescence-derived mitochondrial dysfunction in mesenchymal stem cells via the HSPA1L-mitophagy pathway. *Aging Cell.* 2020; 19(3):e13111. doi: 10.1111/acer.13111

120. Seok J, Jung HS, Park S, et al. Alteration of fatty acid oxidation by increased CPT1A on replicative senescence of placenta-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11(1):1. doi: 10.1186/s13287-019-1471-y

121. Li X, Hong Y, He H, et al. FGF21 mediates mesenchymal stem cell senescence via regulation of mitochondrial dynamics. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:4915149. doi: 10.1155/2019/4915149

122. Zhang Y, Xu J, Liu S, et al. Embryonic stem cell-derived extracellular vesicles enhance the therapeutic effect of mesenchymal stem cells. *Theranostics.* 2019;9(23):6976–6990. doi: 10.7150/thno.35305

123. Chen B, Sun Y, Zhang J, et al. Human embryonic stem cell-derived exosomes promote pressure ulcer healing in aged mice by rejuvenating senescent endothelial cells. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):142. doi: 10.1186/s13287-019-1253-6

124. Khanh VC, Yamashita T, Ohneda K, et al. Rejuvenation of mesenchymal stem cells by extracellular vesicles inhibits the elevation of reactive oxygen species. *Sci Rep.* 2020;10(1):17315. doi: 10.1038/s41598-020-74444-8

ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за переписку:

Баклашев Владимир Павлович, д.м.н.;
адрес: Российская Федерация, 115682, Москва,
Ореховый бульвар, д. 28;
e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru; eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

Соавторы:

Самойлова Екатерина Михайловна;
e-mail: samoyket@gmail.com; eLibrary SPIN: 3014-6243;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0485-6581>

Кальсин Владимир Анатольевич;
e-mail: vkalsin@mail.ru; eLibrary SPIN: 1046-8801;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2705-3578>

Юсубалиева Гаухар Маратовна, к.м.н.;
e-mail: gaukhar@gaukhar.org; eLibrary SPIN: 1559-5866;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3056-4889>

AUTHORS' INFO

The author responsible for the correspondence:

Vladimir P. Baklaushev, MD, PhD;
address: 28, Orekhovy blvd, Moscow, 115682, Russia;
e-mail: baklaushev.vp@fnkc-fmba.ru;
eLibrary SPIN: 3968-2971;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1039-4245>

Co-authors:

Ekaterina M. Samoilova;
e-mail: samoyket@gmail.com; eLibrary SPIN: 3014-6243;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0485-6581>

Vladimir A. Kalsin;
e-mail: vkalsin@mail.ru; eLibrary SPIN: 1046-8801;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2705-3578>

Gaukhar M. Yusubalieva, MD, PhD;
e-mail: gaukhar@gaukhar.org; eLibrary SPIN: 1559-5866;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3056-4889>