

К.А. Айтбаев¹, И.Т. Муркамилов^{*2,3}, Ж.А. Муркамилова³,
И.О. Кудайбергенова², Ф.А. Юсупов⁴

¹ — Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызстан

² — Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

³ — ГОУ ВПО Кыргызско-Российский славянский университет, Бишкек, Кыргызстан

⁴ — Ошский государственный университет, Ош, Кыргызстан

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТАРЕНИИ: В ФОКУСЕ — ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ

К.А. Aitbaev¹, I.T. Murkamilov^{*2,3}, Zh.A. Murkamilova³,
I.O. Kudaibergenova², F.A. Yusupov⁴

¹ — Scientific and research Institute of molecular biology and medicine, Bishkek, Kyrgyzstan

² — I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan

³ — SEI HPE Kyrgyz Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyzstan

⁴ — Osh State University, Osh, Kyrgyzstan

Regulation of the Immune System in Aging: Focus on Epigenetic Mechanisms

Резюме

Эпигенетика изучает процессы, приводящие к изменению активности генов без изменения последовательности ДНК. Эпигенетические механизмы, такие как метилирование ДНК и модификации гистонов, формируются в период эмбрионального развития, а эпигенетические профили стабильно наследуются при митозе, обеспечивая дифференцировку клеток и их дальнейшую судьбу в процессе развития. Под действием внутренних и внешних факторов, таких как метаболический профиль, гормоны, питание, наркотики, курение и стресс, эпигенетические механизмы активно модулируются и, в этом смысле, образ жизни может существенно влиять на эпигеном, а следовательно, и на профиль экспрессии генов и функцию клетки. Показано, что развитие и функции клеток как врожденной, так и адаптивной иммунной системы, также регулируются эпигенетическими механизмами, а негативные эпигенетические изменения являются отличительной чертой старения и онкологических заболеваний. Учитывая эти данные, можно полагать, что возрастные изменения профиля эпигенетических меток могут привести к снижению иммунной функции и способствовать увеличению заболеваемости у пожилых людей. Поэтому, чтобы обеспечить здоровую старость, необходимо лучше понять, как избежать эпигенетических изменений, которые связаны со старением иммунной системы. В данном обзоре мы попытались обобщить последние достижения в этой области исследований и рассмотреть возможность их использования в качестве средств диагностики, профилактики и лечения заболеваний.

Ключевые слова: иммунное старение, эпигенетика, метилирование ДНК, модификации гистонов, окружающая среда, возрастные заболевания

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования

Статья получена 13.05.2021 г.

Принята к публикации 05.10.2021 г.

Для цитирования: Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Муркамилова Ж.А. и др. РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СТАРЕНИИ: В ФОКУСЕ — ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ. Архивъ внутренней медицины. 2022; 12(1): 35-44. DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-1-35-44

Abstract

Epigenetics studies processes leading to changes in the activity of genes without changing the DNA sequence. Epigenetic mechanisms, such as DNA methylation and histone modifications, are formed during embryonic development, and epigenetic profiles are stably inherited in mitosis, providing cell differentiation and their further fate in the development process. Under the influence of internal and external factors such as metabolic profile, hormones, nutrition, drugs, smoking and stress, epigenetic mechanisms are actively modulated and, in this sense, a lifestyle can significantly affect

*Контакты: Илхом Торобекович Муркамилов, e-mail: murkamilov.i@mail.ru

*Contacts: Ilkhom T. Murkamilov, e-mail: murkamilov.i@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>

the epigenome, and consequently, the gene expression profile and function of cells. It is shown that the development and function of cells of both congenital and adaptive immune systems are also regulated by epigenetic mechanisms, and negative epigenetic changes are a distinctive feature of aging and cancer. Given these data, it can be assumed that age-related changes in the profile of epigenetic labels can lead to a decrease in immune function and contribute to an increase in morbidity in the elderly. Therefore, to ensure healthy aging, better understanding of how to avoid epigenetic changes that are associated with aging of the immune system is needed. In this review, we tried to generalize the latest achievements in this field of research and consider the possibility of using them for diagnosis, prevention and treatment of diseases.

Key words: *immune aging, epigenetics, DNA methylation, histone modifications, environment, age-related diseases*

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests

Sources of funding

The authors declare no funding for this study

Article received on 13.05.2021

Accepted for publication on 05.10.2021

For citation: Aitbaev K.A., Murkamilov I.T., Murkamilova Zh.A. et al. Regulation of the Immune System in Aging: Focus on Epigenetic Mechanisms. The Russian Archives of Internal Medicine. 2022; 12(1): 35-44. DOI: 10.20514/2226-6704-2022-12-1-35-44

Введение

Старение — это процесс постепенного угасания всех нормальных физиологических функций организма [1], заканчивающийся, в конце концов, смертью. Процесс этот на сегодняшний день ещё недостаточно изучен, хотя выдвинуто множество различных теорий, в том числе: накопления генетических повреждений [2]; свободных радикалов [3]; клеточного апоптоза [4]; иммунологическая [5] и другие, пытающихся пролить свет на его природу. К сожалению, ни одна из них пока полностью не объясняет все аспекты этого сложного биологического процесса. У людей старение характеризуется снижением иммунной функции, хроническим воспалением, саркопенией и, что наиболее важно, повышением восприимчивости к заболеваниям, таким как рак, сердечно-сосудистые, метаболические и нейродегенеративные заболевания. Несмотря на системный характер, эти фенотипы являются результатом изменений в различных клеточных процессах, таких как ответ на повреждение ДНК, митохондриальная и протеасомная функции и регуляция клеточной смерти. Развивающаяся при старении дисрегуляция транскрипции приводит к существенным изменениям в экспрессии генов. Исследованиями установлено, что на эти изменения в транскриптоме, известные как «эпигенетический дрейф», существенное влияние оказывают модификации эпигенетических механизмов регуляции активности генов.

Эпигенетические механизмы регуляции активности генов

Как известно, все клетки организма имеют идентичный геном. Но при этом очень сильно различаются цитоморфологически и функционально. Эти различия являются следствием происходящих в клетках «эпигенетических процессов», которые могут модулировать характер экспрессии генов. Эпигенетические процессы — это прямые наследственные изменения экспрессии генов без каких-либо нарушений в последовательности ДНК, когда активные или молчащие состояния генов контролируются путём добавления или удаления химических модификаций в хроматине [6].

Эти модификации включают: 1) метилирование ДНК; 2) различные посттрансляционные изменения гистонов (ацетилирование, метилирование, фосфорилирование и т.д.); и 3) связывание матричных РНК с некодирующими РНК (нкРНК). В данном обзоре мы обсудим последние достижения, которые произошли в изучении роли эпигенетических механизмов в регуляции активности генов при старении клеток, в том числе и иммунных, с фокусированием внимания на значении двух типов эпигенетической модификации — метилирования ДНК и гистоновых модификаций.

Метилирование ДНК. У млекопитающих метилирование ДНК связано, главным образом, с присоединением метильных групп (-CH₃) к остаткам цитозина, присутствующим на сайтах CpG. Эта реакция катализируется ДНК-метилтрансферазами (DNMT, DNA methyltransferases) — DNMT1, 3A и 3B, которые переносят метильную группу с S-аденозилметионина (SAM, S-adenosylmethionine) на 5-й углерод цитозина, образуя 5-метилцитозин (5mC, 5-methylcytosine). В клетках млекопитающих метилирование, как правило, происходит в CpG-островках, а количество таких метилированных сайтов составляет 70-80% [7]. Гиперметилирование промоторных областей генов обычно вызывает транскрипционное молчание, тогда как гипометилирование — стимулирует экспрессию гена.

Гистоновые модификации. В нуклеосомах — основных структурных единицах хроматина — не только молекула ДНК, но и гистоновые белки могут нести химические модификации, которые являются фундаментальными для хроматин-зависимой регуляции генов [8]. Посттрансляционные модификации (ПТМ) гистонов регулируют структуру хроматина, влияя на межнуклеосомные взаимодействия, и рекрутируют белки и комплексы, которые влияют не только на транскрипцию гена, но также опосредуют процессы, такие как ДНК репликация, восстановление ДНК, альтернативный сплайсинг и рекомбинация [6]. ПТМ гистонов, такие как ацетилирование, метилирование, убиквитинирование, фосфорилирование, сумоилирование и поли-АДФ-рибозилирование происходят, в основном, в аминоконцевых хвостах гистонов, легко доступных

для ковалентных посттрансляционных модификаций и составляют потенциальный «гистоновый код» — гипотезу, согласно которой модификации гистонов могут приводить к активации либо репрессии транскрипции генов [9]. Например, ацетилирование и фосфорилирование, уменьшая положительный заряд гистонов, ослабляют взаимодействие между гистонами и ДНК, облегчая, тем самым, доступ транскрипционных факторов к механизмам транскрипции ДНК. В результате этих и других ПТМ гистонов изменяется структура хроматина, что, в свою очередь, приводит к активации или подавлению таргентных генов вследствие модулирования связывания транскрипционных агентов с их соответствующими промоторными элементами ядра [10].

Изменения эпигенетических меток при старении

Метилирование ДНК. Показано, что в преклонном возрасте происходит глобальное гипометилирование ДНК. Повторяющиеся последовательности ДНК, обычно «заглушенные» эпигенетическими метками, с возрастом становятся экспрессируемыми, и частично могут быть ответственными за потерю гетерохроматина, которая наблюдается при старении [11]. Кроме того, старение сопровождается гипометилированием промоторов определенных генов, например IL17RC, что индуцирует его транскрипцию и приводит к экспрессии воспалительных хемокинов и цитокинов [12]. В то же время промоторы некоторых других генов становятся гиперметилированными и аномально «молчащими». Относительно 5-гидроксиметилцитозина (5hmC), который возникает при активном деметилировании 5-метилцитозина, было показано, что хотя глобальный уровень 5hmC в мозге повышается при старении как у мышей, так и у людей, уровень его в других тканях, таких как кровь, снижается. Несмотря на то, что возрастные изменения метилирования ДНК происходят более часто в островках CpG, тканеспецифические изменения обнаруживались также в других геномных регионах. При всестороннем комплексном исследовании метилирования ДНК, Yuan et al. [13] показали, что помимо гиперметилированных CpG-островков, большое число дифференциально метилированных участков обнаруживается в регионах с низким содержанием CpG. Эти авторы также идентифицировали большие, связанные со старением, гипометилированные блоки, аналогичные описанным при раке. На основе изучения геномного профиля метилирования цельной крови от 656 лиц, охватывающего широкий возрастной диапазон (от 19 до 101 года), была построена количественная модель не только для более точного определения биологического возраста человека, но и предсказания у него риска смерти от старческих заболеваний и, в частности, вероятности заболеть раком [14].

Модификации гистонов. Глобальное ДНК-гипометилирование, наблюдаемое в преклонном возрасте, было тесно связано с изменениями моделей модификации гистонов. Кроме того, при старении наблюдались изменения в активности, функциях и численности

ферментов эпигенетического аппарата. Например, гены, идентифицированные как гиперметилированные, были ассоциированы с двухвалентными хроматиновыми доменами (на них расположены гены, несущие сразу два типа меток гистона H3: активные и неактивные) в эмбриональных стволовых клетках и с репрессивными гистоновыми метками H3K27me3 и H3K9me3 — в дифференцированных клетках [15]. С возрастом наблюдалась глобальная потеря гистонов, а также дисбаланс между активирующими и репрессивными метками гистонов. Так, в старых клетках происходило уменьшение содержания ацетилированных H3K9 и триметилированных H3K27 меток. При старении отмечалось также снижение экспрессии метилтрансферазы лизинового гистонов, что способствовало уменьшению уровня меток H3K9me3 и потере гетерохроматина. Возрастное снижение экспрессии HP1 и DNMT может способствовать деметилированию ДНК в гетерохроматине. Еще одним изменением, которое может способствовать более открытому состоянию хроматина, является повышенный уровень H4K16Ac с репликативным возрастом, как описано в культуре человеческих фибробластов. H4K16 является мишенью гистоновой деацетилазы SIRT1, которая связана со степенью старения и поддержания генома в разных организмах.

Изменения при старении происходят не только в уровне канонических гистонов, но и в присоединении гистоновых вариантов, не зависящих от репликации. Так, репликационно-независимый вариант гистона H3.3 с возрастом становится более распространенным не только в нереплицирующихся клетках (таких как нейроны), но и в других клетках, что также способствует большей доступности хроматина для аппарата транскрипции. Другим, не зависящим от репликации вариантом гистона, связанным со старением, является H2A.Z, при нокауте которого у фибробластов развивается преждевременное старение [16]. И наконец, со старением связан макроH2A вариант гистона H2A. Возрастное повышение уровня макроH2A было описано как при репликативном старении культивируемых фибробластов человека, так и во многих других тканях старых животных [17].

Влияние среды и образа жизни. В классическом исследовании Fraga et al. [18] были продемонстрированы, с одной стороны, значительные различия в уровне эпигенетических меток между пожилыми монозиготными близнецами, а с другой — практическая неразличимость их между очень молодыми близнецовыми парами. Ещё более интересным в этом исследовании оказалось то, что наибольшие различия в эпигенетических метках выявлялись между теми пожилыми близнецами, которые очень мало времени проживали вместе. Полученные данные о решающем влиянии среды на изменчивость фенотипических признаков подтверждаются исследованиями в популяции людей, которые показали, что генетические факторы ответственны лишь за 20-30% изменчивости, наблюдаемой между идентичными близнецами, а виновником большей части изменчивости является эпигенетический дрейф, который происходит в течение всей жизни близнецов [19].

Эти исследования иллюстрируют, кроме того, каким образом возраст и различные факторы окружающей среды влияют на изменения эпигенетических меток. Если взять в целом, то эти модификации эпигенетических меток изменяют состояние хроматина, делая его более открытым и доступным для регуляторов транскрипции, приводя к аномальной транскрипции гена и геномной нестабильности. Поэтому они были предложены в качестве ключевых регуляторов процесса старения, способствующих развитию возрастных заболеваний и даже предикторов хронологического возраста.

Важно подчеркнуть, что эпигеном действует как молекулярный интерфейс между геномом и окружающей средой. Это значит, что образ жизни, в том числе привычки питания, физические упражнения, стресс-факторы, курение, злоупотребление алкоголем или наркотиками, контакт с химическими веществами, могут изменять эпигенетический ландшафт, влияя на структуру и функцию хроматина и, следовательно, благоприятствовать развитию фенотипов болезней, связанных со старением. Так, установлено, что физические упражнения вызывают реконструирование эпигенетических меток в скелетных мышцах человека и жировой ткани. Повышение работоспособности и выносливости кардиореспираторной системы, снижение уровней липопротеинов низкой плотности, которые происходили под влиянием занятий физическими упражнениями, сопровождалось деметилизацией островков CpG, в противовес изменениям метилирования, наблюдаемым во время старения. В то же время такие вредные привычки как курение [20] и злоупотребление алкоголем [21] оказывали отрицательные эффекты на процессы, связанные с изменениями эпигенетических меток. Например, предродовое курение влияло на метилирование ДНК клеток крови у детей курящих матерей. Эпигенетические изменения, вызванные хроническим воздействием сигаретного дыма, способствовали сенсбилизации бронхиальных эпителиальных клеток к злокачественному перерождению. Курение табака вызывало изменения в метилировании ДНК в клетках как врожденной, так и адаптивной иммунной систем. Модификации в метилировании ДНК у плода были также связаны со злоупотреблением алкоголя его матерью.

Механизм многих из этих воздействий окружающей среды на старение, полученных как на моделях человека, так и животных, связан с окислительным стрессом. Хотя тяжелые острые или хронические стрессовые воздействия ускоряют старение, способствуя накоплению клеточных повреждений из-за истощения защитных механизмов, умеренный стресс, напротив, этот процесс замедляет, активизируя защитные механизмы, предупреждая и / или устраняя эти клеточные повреждения [22]. Исследования, выполненные в последние годы, продемонстрировали связь между клеточным стрессом и эпигенетическими изменениями. Как известно, активные формы кислорода (АФК), приводят к окисленным повреждениям ДНК, которые могут способствовать изменениям ДНК-метилирования. В этом аспекте, заслуживают внимания результаты исследований по изучению содержания в тканях

8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-оксо-dG) — одного из основных окислительных продуктов повреждения ДНК. Так, было показано, что с возрастом у млекопитающих происходит накопление в ДНК различных органов и тканей этого модифицированного нуклеотида [23]. Кроме того, ограничение калорийности питания, которое известно как способ замедления старения и повышения продолжительности жизни, вызывало значительное снижение содержания 8-оксо-dG в ДНК всех тканей мышцей [24]. Установлено также, что АФК могут препятствовать ТЕТ (ten-eleven translocation)-опосредованному деметиливанию ДНК [25].

Важную роль в реакциях на различные стрессы, такие как окислительный или генотоксический, играют сиртуины — деацетилазы гистонов, катализирующие удаление ацетильной группы гистонов. Сиртуины модифицируют гистоны и изменяют конформацию хроматина, делая упаковку ДНК более плотной и менее доступной для транскрипционных факторов, что приводит к транскрипционной репрессии. Однако эта функция сиртуинов не является единственной. Оказалось, что при повреждении ДНК, вызванном АФК, сиртуины перемещаются на эти участки повреждений и принимают участие в его восстановлении. O'Hagan et al. [26] показали, что этот процесс может привести к стабильным aberrантным эпигенетическим и генным транскрипционным изменениям, аналогичным таковым, наблюдаемым при раке. В мышечных эмбриональных мезенхимальных фибробластах, повышенный уровень перекиси водорода индуцировал SIRT1 для перемещения его из репрессированных последовательностей ДНК к местам ДНК-разрывов для содействия репарации, что приводило к изменениям транскрипции, которые аналогичны таковым, наблюдающимся в мозге старых крыс. Тем не менее, отвечая на стресс окружающей среды, сиртуины, по-видимому, способствуют выживанию клеток и вследствие этого увеличивают репликативную и хронологическую продолжительность жизни. Это предположение основано на данных о том, что: 1) ограничение калорий, которое индуцирует деацетилазу SIRT1, способствовало повышению жизнестойкости клеток млекопитающих; 2) наличие активности сиртуинов было необходимым условием для повышения физической активности и увеличения продолжительности жизни при ограничении калорий [27]; 3) здоровье и выживаемость мышцей, вскармливаемых высококалорийной диетой, улучшалось после их лечения ресвератролом, который активирует SIRT1 [28]. Эти свидетельства значимости сиртуинов в повышении продолжительности жизни разных модельных организмов при ограничении калорий ясно показывают, что эпигенетические механизмы играют ключевую роль в этом процессе. В данном контексте, новые и уже известные соединения были протестированы в качестве «миметиков ограничения калорий», включая активирующие сиртуин соединения, такие как ресвератрол. Соединения, ингибирующие ацетилирование гистонов, такие как спермидин, также способствовали повышению продолжительности жизни.

Как упоминалось ранее, АФК могут модифицировать ТЕТ-опосредованное деметилирование ДНК [25].

При этом, как увеличение эндогенных антиоксидантов, так и ограничение потребления калорий, снижают повышенные уровни 5hmC в головном мозге старых мышей. Деметилазную активность ферментов ТЕТ можно стимулировать питательными веществами, такими как аскорбиновая кислота. Поскольку активность многих эпигенетических ферментов зависит от внутриклеточных уровней метаболитов (метионин, железо, кетоглутарат, НАД⁺, ацетил-коэнзим-А, SAM), клеточный метаболизм контролирует эпигенетические модификации и может регулировать долголетие [29].

Другие исследования в когортах людей продемонстрировали, что стрессоры жизни, особенно в раннем периоде развития, могут вызывать длительные изменения эпигенома. Исследования на людях и животных также показали, что стресс и глюкокортикоиды могут индуцировать длительные изменения в метилировании ДНК как на геномном уровне, так и на уровне отдельных локусов генов.

Эпигенетическая регуляция иммунной системы

Важнейшей характеристикой иммунной системы является ее способность различать «свое» от «не-свое», а затем атаковать и обезвредить «не-свое» (потенциально патогенные агенты или вещества), чтобы защитить организм от его вредного воздействия. Защита от потенциально опасной для организма среды осуществляется несколькими популяциями иммунных клеток с помощью как врожденных, так и адаптивных механизмов. Однако полноценное осуществление своих защитных функций эти иммунные клетки могут лишь при строго контролируемой регуляции дифференцировки гемопоэтических клеток, от которых они происходят. Растущее число исследований свидетельствует о решающей роли эпигенетических механизмов в развитии и дифференцировке клеток иммунной системы, а также ассоциированных с ними патологий. С возрастом, как известно, иммунокомпетентность, т.е. функциональное состояние иммунной системы, при котором обеспечивается эффективная защита организма от инфекционных агентов, опухолевых клеток и химических веществ, обладающих антигенными свойствами, становится дефектной. Одной из основных причин этого, как выяснилось, является репрессия генов дифференцировки иммунных клеток наряду с активацией генов аутоиммунитета вследствие изменений в метилировании ДНК.

Клетки врожденной иммунной системы. Врожденная иммунная система, состоящая из макрофагов, нейтрофилов, дендритных клеток (DCs, dendritic cells) и клеток естественных киллеров (NK, natural killer), является первой линией защиты в ответ на патогенные агенты. Макрофаги и дендритные клетки являются профессиональными антигенпрезентирующими клетками (АПК), способными захватывать антигены для обработки и представления лимфоцитам. При активации резидентные макрофаги могут действовать либо непосредственно, уничтожая свои мишени, либо косвенным образом, инициируя острый воспалительный

ответ путем продуцирования цитокинов, хемоаттрактантов и воспалительных медиаторов, а также рекрутируя нейтрофилы, моноциты и DCs. При этом, активированные макрофаги в ответ на внедрение внеклеточной среды, выделяют разные факторы, и способны приобретать функционально отличные фенотипы: классические M1 и альтернативные M2. Активированные M1-макрофаги индуцируются цитокиновым интерфероном-гамма (IFN- γ), а также бактериальными продуктами и обладают провоспалительным профилем, играя важную роль в защите хозяина. В отличие от M1-макрофагов, M2-макрофаги индуцируются интерлейкином-4 и -10 (IL-4 и IL-10), а также гельминтными продуктами, и обладают противовоспалительным профилем, способствующим восстановлению тканей. Поскольку зрелые клетки иммунной системы должны быстро реагировать на патогены, вклад эпигенетических механизмов в регуляцию генов, участвующих в этих реакциях, в значительной степени, охарактеризован. В данном контексте было установлено, что эпигенетические механизмы участвуют в модуляции поляризации макрофагов, главным образом, через представление гистоновых меток в энхансерах конкретных генов.

Тот факт, что воспаление регулируется эпигенетическими механизмами, впервые был продемонстрирован в исследовании Sakiani and Natoli [30]. Они выявили, что при потере метилирования H3K9 в промоторных регионах культивируемых человеческих моноцитов после их экспозиции к бактериальному липополисахаридному эндотоксину (LPS, lipopolysaccharide), происходит индукция воспалительных цитокинов, таких как IL-8 и макрофагальный воспалительный белок 1-альфа (MIP-1 α , macrophage inflammatory protein 1-alpha). Врожденные иммунные клетки имеют определенную степень специфичности через представление на своих поверхностях образраспознающих рецепторов (PRRs, pattern recognition receptors) для распознавания ассоциированных с патогенами молекулярных структур. Современные исследования показывают, что, в отличие от прежних представлений, клетки врожденной иммунной системы могут хранить память о прошлых стимулах. Это явление, которое получило название «тренированного иммунитета», позволяет клеткам врожденной иммунной системы изменять реакцию на повторные стимулы, реагируя сильнее или на большее, по сравнению с исходным, число микробов [31]. Эта иммунологическая «память» включает изменения программ транскрипции путем перепрограммирования эпигенетических меток. Например, метаболические изменения в моноцитах, активированных β -глюканом от *Candida*, ассоциируются с повышенными уровнями активных гистоновых меток, триметилированием H3K4 и ацетилированием H3K27, что приводит к увеличению продукции цитокинов IL-6 и TNF, воспалению, и развитию «тренированного иммунитета» [32]. Макрофаги, повторно стимулированные LPS, индуцируют более ослабленную воспалительную реакцию, сохраняя при этом неповрежденный антимикробный ответ. Foster et al. [33] показали, что гены, участвующие в толерантности к LPS, теряют активные гистоновые метки H3K4me3 и H4Ac

в своих промоторах во время повторной стимуляции с помощью LPS, в то время как нетолерантные гены, напротив, сохраняют эти активные метки. При определённых стимулах, эпигенетические механизмы регулируют также дифференцировку моноцитов человека в DC. Например, наблюдаемое повышение экспрессии CD209 во время дифференцировки, как было показано, является результатом приобретения H3K9Ac и потери H3K9me3, H4K20me3 и метилирования ДНК в его промоторе [34].

Т-лимфоциты. Возрастное угасание функции иммунной системы, получившее название «иммунного старения», сопровождается изменениями в эпигенетических метках. Kuwahara et al. [35] показали, что CD4 Т-клеточное старение и гомеостаз цитокинов контролируются через поддержание ацетилирования гистонов в локусе гена *Bach2* (кодирует одноимённый белок — транскрипционный фактор), стимулируемом связыванием с ядерным белком *menin*. Кроме того, растущая с возрастом геномная нестабильность в тимусе была связана с потерей маркеров гетерохроматина, включая H3K9me3 с соответствующей редукцией экспрессии гена SUV39H1. Это может свидетельствовать о том, что старение стимулируется ДНК-гипометилированием, которое наблюдается именно в стареющих, но не в бессмертных клетках, а ингибирование метилирования ДНК приводит бессмертные клетки к остановке клеточного цикла.

Клетки врожденной иммунной системы презентуют антигены как В-лимфоцитам, так и Т-лимфоцитам, активируя их для пролиферации и дифференцировки в эффекторные клетки. АПК активируют рецептор Т-клеток и костимуляторные молекулы наивных Т-клеток, инициируя дифференцировку Т-клеток путем активации ядерного фактора активированных Т-клеток NFAT (Nuclear Factor of Activated T Cells) и продуцирования интерлейкина-2 (ИЛ-2). В результате активации наивных Т-клеток начинаются синтез и секреция ИЛ-2, а также одновременная экспрессия на клеточной поверхности его рецептора. ИЛ-2, взаимодействуя с собственным рецептором, обеспечивает быстрое размножение и последующую дифференцировку наивных Т-клеток до зрелых эффекторных клеток. Наивные и отдыхающие CD4 + Т-клетки не экспрессируют ИЛ-2, но этот цитокин экспрессируется в Т-клетках при антигенной стимуляции. Murayama et al. [36] показали, что деметилирование одного-единственного специфического сайта CpG в энхансерной области гена ИЛ-2 человека является достаточным для транскрипции ИЛ-2 и, что более интересно, это единственное эпигенетическое изменение является памятью о том, что CD4 + Т-клетки встретили антиген.

Пептидные антигены презентуются Т-клеткам посредством АПК в комплексе с МНС (major histocompatibility complex) — главным комплексом гистосовместимости. Цитотоксические Т-клетки, экспрессирующие CD8, распознают антигены, представленные нормальными клетками в контексте молекул МНС класса I, и способны непосредственно уничтожить инфицированные клетки. Активированные CD8 + Т-клетки имеют повышенные уровни H3Ac в IFN- γ промоторе

и энхансере, и данная эпигенетическая модификация поддерживается через память CD8 + Т-клеток и позволяет быстрее и сильнее осуществлять цитотоксический ответ на дополнительную стимуляцию антигена. Класс II МНС — это молекулы МНС, участвующие в представлении антигена CD4 + хелперным Т-клеткам. Трансактиватор класса II (СИТА) является ключевым фактором, контролирующим экспрессию МНС-II, и как экспрессия СИТА, так и СИТА-зависимая экспрессия МНС-II являются эпигенетически регулируемые. Анализ доступности хроматина в мононуклеарных клетках периферической крови определил память CD8 + Т-клеток как субпопуляцию, имеющую при старении наиболее глубокое ремоделирование хроматина.

После распознавания антигена, в зависимости от цитокиновой среды, наивные Т-лимфоциты дифференцируются в эффекторные Т-хелпер (Th1, Th2 и Th17) или регуляторные (Treg) CD4 + Т-клетки и координируют конкретные иммунные ответы путем создания различных наборов цитокинов. Дифференцирование в сторону Th1-профиля индуцируется IFN- γ , IL-12 или IL-15, тогда как дифференцирование в направлении Th2-профиля — IL-4, IL-10 или IL-13; оба пути включают регулируемую экспрессию нескольких эффекторных генов. Трансформирующий фактор роста бета и IL-6 ответственны за индуцированную дифференциацию наивных Т-клеток в клетки Th17. CD4 + дифференциация Т-клеток в эти разные профили жестко регулируется, чтобы обеспечить специфические цитокиновые профили, а изменения эпигенетических меток являются фундаментальными для завершения этого процесса. Промотор гена IFNG, гиперметилированный в наивных Т-клетках человека, деметилируется во время дифференцировки в Th1-профиль. Конкретные гистоновые метки были идентифицированы по всему локусу IFNG: H4Ac и H3K4me3 — в клетках Th1 и H3K27me2 и H3K27me3 — в клетках Th2. Наивные и Th1-клетки имели сильно метилированный промотор гена IL-4, а клетки Th2 — частично деметилированный интрон 2 IL-4. Th17-клетки характеризовались экспрессией цитокина IL-17 и связанным с RAR «сиротским» рецептором C (RORC). Деметилирование как IL-17A, так и локуса RORC коррелирует с экспрессией гена в человеческих клетках Th17, а активные метки гистонов H3Ac и H3K4me3 были обнаружены в IL-17 локусе. Деметилирование локуса Foxp3, а также гиперацетилирование гистонов, как было показано, является важным для сохранения стабильной экспрессии транскрипционного фактора FOXP3 (влияет на развитие и функционирование регуляторных Т-лимфоцитов) и стабилизации регуляторного фенотипа в Treg-клетках.

В-лимфоциты. После связывания с антигеном и индуцирования Т-хелперными клетками, В-клетки дифференцируются в антитела-секретирующие плазматические клетки. Антитела связываются с определенным антигеном, что приводит к лучшему распознаванию и разрушению патогена (например, бактерии, вируса и опухолевой клетки) путем активации комплемента и / или взаимодействия с литическими клетками. При дифференцировке В-клеток экспрессируются

линейно-специфические гены, тогда как гены, связанные с мультипотентными прогениторами и альтернативными линиями, подавляются. Комплексные эпигенетические механизмы регулирования координируют дифференцировку и функцию В-клеток, включая моноаллельную V (D) J реаранжировку и определение разнообразия антител. Ключевым транскрипционным фактором, участвующим в коммитировании В-клетки, является транскрипционный фактор PAX-5 (paired box 5), который, кроме того, что ее экспрессия регулируется эпигенетическими механизмами, рекрутирует хроматинмодифицирующие белки, чтобы регулировать экспрессию своих мишеней. Например, промотор гена CD79a, гиперметилованный в стадии предшественника, деметируется на ранних стадиях дифференцировки В-клеток, с последующим действием гистон-ацетилтрансферазы, рекрутируемой Pax5, что обеспечивает возможность экспрессии гена [37]. Pax5 также может взаимодействовать с ферментами, модифицирующими хроматин, чтобы репрессировать гены, специфичные для других линий [38]. V (D) J перегруппировка и определение разнообразия антител необходимы для продукции эффективных антител и требуют индуцированной активации цитидин деаминазы (AID), экспрессируемой В-клетками на определенных стадиях дифференцировки. В наивных В-клетках промотор AID-гена гиперметилован и ген не экспрессируется. При активации В-клеток AID-ген становится деметилованным и приобретает повышенные уровни активной метки гистона H3Ac. Поступление этой метки гистона в активные промоторы и дистальные энхансеры также имеет решающее значение для изменений экспрессии генов, происходящих во время дифференцировки В-клеток в плазматические клетки. Blimp-1, транскрипционный репрессор, который поддерживает идентичность плазматической клетки, имеет свою эпигенетически индуцируемую экспрессию и эпигенетически подавляет экспрессию генов зрелой В-клетки путем рекрутирования гистоновых модификаторов. После процессов V (D) J перестройки и определения разнообразия антител, В-клетки могут дифференцироваться в В-клетки памяти, которые приобретают дополнительные эпигенетические метки кроме тех, которые были получены при активации В-клеток. Различные эпигенетические модификации, а также эпигенетические ферменты, такие как энхансер гомолога 2 белка zeste, гистон ацетилтрансфераза белка цинкового пальца моноцитарного лейкоза и DNMT3a, наблюдаются в покоящихся и активированных В-клетках, которые указывают на то, что эпигеном В-клеток памяти может способствовать более быстрой и более эффективной активации, чем эпигеном наивных клеток.

Участие эпигенетических модификаций в старении клеток иммунной системы

Связанные с возрастом дефекты наблюдаются во всех клетках иммунной системы, влияя на их активацию и продукцию цитокинов.

Врожденные иммунные клетки. Показано, что многие иммунные ответы угнетаются при старении, но в то же время наблюдается и гиперреактивность некоторых ответов. Возрастные эпигенетические изменения, по-видимому, влияют на дифференцировку моноцитов, поскольку в более старых гемопоэтических клетках-предшественниках (HPC, hematopoietic progenitor cells) отмечалось гипометилирование генов, связанных с дифференцировкой, по сравнению с клетками-предшественниками из пуповинной крови. Это, возможно, связано с уменьшением плюрипотентности и снижением потенциала дифференцировки HPC у более старых доноров. В то же время, в более старых HPC наблюдалось метилирование *de novo* в подгруппе генов, связанных с репрессивным комплексом Polycomb, что могло способствовать уменьшению фенотипической пластичности старых стволовых клеток. Более того, по данным Kramer a. Challen [39], эпигенетическая дисфункция может быть предшественником гематологической болезни у пожилых людей. В пожилом возрасте эпигенетические механизмы способствуют также уменьшению экспрессии МНС-II в макрофагах. Хотя количество NK-клеток возрастает у пожилых людей, в то же время снижается их цитотоксическая активность, и регуляция ДНК-метилирования IFN- γ и IL-2, по-видимому, вносит вклад в эту дефектную функцию NK-клеток. При старении отмечается дисбаланс между воспалительными и противовоспалительными реакциями, который характеризуется повышенными уровнями медиаторов воспаления, таких как IL-6 и фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α) даже при отсутствии острой инфекции или другого физиологического стресса (процесс, известный как «системное субклиническое воспаление») [40]. Экспрессия TNF- α увеличивается в процессе старения и это связано с деметилированием его промотора. Эта эпигенетическая модификация способствует увеличению уровней TNF- α , а также IL-1 α , инициируя системное субклиническое воспаление, ассоциированное с отдыхающими нейтрофилами у пожилых доноров.

Основная причина заболеваемости пожилых людей в мире — это болезни системы кровообращения и заболевания лёгких воспалительного характера. В этом контексте, гипометилирование промотора воспалительных генов, таких как толл-подобный рецептор 2, карнитин О-ацетилтрансфераза и фактор свёртывания крови III, были связаны со снижением функции лёгких [41]. Цинк является значимым микроэлементом для развития и функционирования иммунной системы, и его дефицит, часто наблюдаемый при старении, способствует широкому спектру иммунных дефектов, включая повышенную воспалительную реакцию путём индуцирования деметилирования IL-6 промотора. Используя С-реактивный белок (СРБ) в качестве воспалительного биомаркера, Ligthart et al. [42] провели метаанализ широкомасштабных ассоциативных исследований метилирования ДНК при хроническом субклиническом воспалении. В этом исследовании, авторы продемонстрировали, что несколько ассоциированных с воспалением CpG сайтов были связаны с экспрессией соседних генов, и что многие из этих CpGs показывали

ассоциацию с кардиометаболическими фенотипами и инцидентами коронарной болезни сердца. Среди этих генов значился и ген AIM2, играющий важную роль в реакциях врожденного иммунитета (принимает участие в защитных механизмах хозяина против бактериальных и вирусных патогенов), который был обнаружен гиперметилированным и экспрессирован на низких уровнях в образцах с низким уровнем СРБ.

Т-лимфоциты. Инволюция структуры и функции тимуса, характеризующаяся снижением числа и функциональными дефектами наивных Т-клеток тимуса, является ещё одним процессом, способствующим иммунному старению. При анализе метиломы CD4 + Т-клеток от новорожденных и столетних индивидуумов, Neun et al. [43] показали, что эти иммунные клетки имеют такие же изменения метилирования ДНК, какие наблюдаются в других тканях во время старения — глобальное ДНК гипометилирование и более высокая вариабельность метилирования ДНК.

Позже, путем комплексного анализа транскриптома, метилома и совокупности всех микроРНК в тех же CD4 + Т-клетках, Zhao et al. [44] обнаружили потенциальную связь между транскрипцией гена и метилированием ДНК для возрастных или иммунных генов, что указывает на участие метилирования ДНК в регуляции транскрипции, связанной с развитием и функциями Т-клеток при старении. Мыши с гетерозиготной *Dnmt1* нулевой мутацией имели гипометилированную ДНК и были фенотипически нормальными, однако по сравнению с обычными мышами того же возраста демонстрировали признаки иммунного старения и раннего развития аутоиммунитета. Посредством анализа наивных CD4 + Т-клеток у 74 здоровых (от 19 до 66 лет) лиц, Dozmorov et al. [45] идентифицировали гипометилированные с возрастом сайты, которые демонстрировали специфическое обогащение активных энхансеров Т-клеток H3K27Ac и H3K4me1 метками, что указывает на прогрессирующий возрастной сдвиг Т-клеточных эпигеномов к провоспалительному и Т-клеточно активируемому фенотипу, который может способствовать увеличению аутоиммунитета с возрастом. Также было показано, что пожилые люди с более высоким уровнем аутоантител, имеют Т-клетки с деметилированием и сверхэкспрессией тех же генов, что и у пациентов с волчанкой [46]. Прогрессирующая потеря костимуляторной молекулы CD28 в CD4 + Т-лимфоцитах при старении связана с нарушением иммунного ответа. Недавно уникальный ландшафт ДНК метилирования был описан в CD28 нулевых Т-клетках, ведущий к экспрессии генов, связанных с воспалением. Другое недавнее исследование обнаружило два сайта CpG в промоторной области гена KLF14 (фактор транскрипции), участвующего в CD4 + Т-клеточной дифференцировке через супрессию FOXP3 (транскрипционный фактор, функционирующий как регулятор развития и функционирования регуляторных Т-клеток), которые показывали стабильное метилирование в раннем возрасте и резкое увеличение метилирования в конце жизни в периферической цельной крови, моноцитах, и изолированных CD4 + Т-клетках [47]. Дисфункциональные

клетки Treg считаются соучастниками иммунного старения и повышенной восприимчивости к возрастным заболеваниям путем подавления Т-клеточных реакций. Garg et al. [48] показали, что большое число клеток Treg, наблюдаемое у старых мышей, связано с гипометилированием энхансера FoxP3, вызывающего его повышенную экспрессию. Они также продемонстрировали, что Treg клетки старых мышей, выделяют большее количество ИЛ-10, и более эффективны в снижении костимуляторной молекулы CD86 на DCs, а также модулируют внеклеточную окислительно-восстановительную среду, подавляя пролиферацию Т-клеток.

Иммунное старение характеризуется также потерей наивных Т-клеток и центральных клеток памяти, а также размножением клеток эффекторной памяти в CD8 + Т-клеточном компартменте. Переход к более дифференцированному состоянию открытости хроматина, обеспечивающая доступность ДНК для регуляторов транскрипции, наблюдался в наивных Т-клетках и центральных клетках памяти у пожилых людей, а также имела место потеря доступности хроматина на промоторах генов в старых наивных клетках, опосредованная частично потерей ядерного респираторного фактора 1 (NRF1). При анализе данных метилирования мононуклеарных клеток периферической крови (PBMCs, peripheral blood mononuclear cells) среди итальянского населения, Horvath et al. [49] показали, что биологический возраст долгожителей оказался моложе их хронологического возраста. McEwen et al. [50], путем изучения профиля иммунных клеток среди «никаянцев» (популяция жителей из Коста-Рики, характеризующаяся высокой частотой встречаемости случаев долгожительства) обнаружили, что эта популяция обладает значительно большим количеством прогнозируемых CD8 + Т наивных клеток и более низким содержанием CD8 + Т клеток памяти по сравнению с «не-никайцами», что указывает на более молодой профиль иммунных клеток. Кроме того, они показали, что эпигенетической характеристикой долгожительства у «никаянцев» является более низкая изменчивость в метилировании их ДНК по сравнению с «не-никайцами».

В-лимфоциты. Учитывая роль эпигенетических механизмов в дифференцировке и функционировании В-клеток, связанные с возрастом эпигенетические изменения могут быть ответственными за снижение гуморального иммунитета у лиц пожилого возраста. Потеря функции В-клеток и их предшественников, редукция иммуноглобулинового разнообразия и аффинности, а также сдвиги в соотношении наивных и коммитированных субпопуляций периферических В-клеток являются характеристикой старения иммунной системы. Гематопозитические стволовые клетки (HSCs, hematopoietic stem cells) теряют способность дифференцироваться с возрастом, а эпигенетические модификации являются важными соучастниками этих изменений. Так, старые мыши имели HSCs с aberrантным профилем экспрессии генов из-за эпигенетического дерегулирования. При старении дефекты наблюдались как на ранних, так и поздних стадиях процесса созревания и дифференцировки В-клеток.

Заключение и перспективы

Как следует из данных обзора, в последние годы получены много новых сведений относительно понимания роли эпигенетических механизмов в регуляции активности генома, в том числе и генов, связанных с иммунной системой. Если проанализировать и обобщить их, то можно прийти к следующим основным выводам: 1) эпигенетические механизмы модулируют состояния хроматина и определяют профили экспрессии генов; 2) эпигенетические механизмы играют решающую роль в развитии и функционировании иммунной системы; 3) строго регулируемое функционирование иммунной системы необходимо для поддержания здорового состояния организма; 4) окружающая среда модифицирует эпигенетические метки на протяжении всего жизненного цикла; и 5) эпигенетические метки потенциально обратимы.

Что же касается роли эпигенетических модификаций в старении клеток организма и, в частности, иммунных клеток, то, несмотря на множество полученных данных об участии их в процессах старения, пробелы и вопросы в этой области по-прежнему остаются открытыми и нуждаются в глубоком исследовании. В частности, необходимо определить, какие именно эпигенетические изменения причинно связаны с процессом старения, и каким образом, через какие механизмы, они вызывают иммунное старение. Безусловно, для решения этих задач следует приложить огромные усилия, однако они, эти усилия, оправданы. Так как если учесть, что эпигенетические метки потенциально обратимы, то полученные знания о том, каким образом среда при помощи эпигенетических механизмов модулирует иммунную систему, способствуя развитию возрастной патологии, могут привести к разработке инновационных стратегий профилактики и терапии заболеваний человека.

И наконец, поскольку некоторые возрастные эпигенетические изменения аналогичны в различных тканях, то они могут уже сегодня потенциально использоваться в качестве биомаркеров фенотипов болезней пожилого возраста в биологических образцах, таких как кровь или слюна. Но самое главное — учитывая, что и внутренние, и внешние факторы изменяют эпигенетические метки на протяжении всей жизни, мы должны чётко осознать, что здоровый образ жизни, позитивно модулируя наш эпигеном, может уже сегодня служить самым эффективным методом профилактики болезней пожилого возраста и обеспечить нам здоровое старение.

Вклад авторов:

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией

Айтбаев К.А. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>): редактирование текста

Муркамилов И.Т. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>): анализ полученных данных, написание текста

Муркамилова Ж.А. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433>): сбор материала, анализ результатов

Кудайбергенова И.О. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3007-8127>): редактирование текста

Юсупов Ф.А. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>): анализ полученных данных, написание текста

Contribution of Authors:

All the authors contributed significantly to the study and the article, read and approved the final version of the article before publication

Aitbaev K.A. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>): text editing

analysis of the received data, writing text

Murkamilova Zh.A. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433>): collection of material, analysis of the data

Kudaibergenova I.O. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3007-8127>): text editing

Yusupov F.A. (ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>): analysis of the received data, writing text

Список литературы/ References:

1. Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Фомин В.В. Молекулярные механизмы старения: роль окислительного стресса и эпигенетических модификаций. Успехи геронтологии. 2019; 32:1-2: 20-28. Aitbaev K.A., Murkamilov I.T., Fomin V.V. Molecular mechanisms of aging: the role of oxidative stress and epigenetic modifications. *Advances in Gerontology*. 2019; 32:1-2: 20-28. [in Russian]
2. Москалёв А.А. Старение и гены. Санкт-Петербург: Наука. 2008; 358 с. Moskaliev A.A. *Aging and genes*. St. Petersburg: Nauka. 2008; 358 p. [in Russian]
3. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology* 1956; 11: 298–300. <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>
4. Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. Соросовский образовательный журнал 2001; 7(6): 4-10. Skulachev V.P. Phenomena of programmed death. Mitochondria, cells and organs: the role of reactive oxygen species. *Soros Educational Journal* 2001; 7 (6): 4-10. [in Russian]
5. Walford RL. Immunologic aspects of aging. *Klin. Wochenschr.* 1969; 47(11): 599-605.
6. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research* 2011; 21(3): 381-395.
7. Li E, Zhang Y. DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014; 6(5): a019133. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019133>
8. Allis CD, Jenuwein T. The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nat Rev Genet* 2016; 17:487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
9. Strahl BD, Allis CD. The Language of Covalent Histone Modifications. *Nature* 2000; 403: 41-45. <http://dx.doi.org/10.1038/47412>
10. Villeneuve LM, Natarajan R. The role of epigenetics in the pathology of diabetic complications. *American Journal of Physiology. Renal Physiology.* 2010; 299: F14–F25.
11. Barbot W, Dupressoir A, Lazar V, Heidmann T. Epigenetic regulation of an IAP retrotransposon in the aging mouse: progressive demethylation and de-silencing of the element by its repetitive induction. *Nucleic Acids Res* 2012; 30: 2365–2373. <https://doi.org/10.1093/nar/30.11.2365>
12. Wei L, Liu B, Tuo J, et al. Hypomethylation of the IL17RC promoter associates with age-related macular degeneration. *Cell Rep* 2012; 2(5): 1151–1158. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.10.013>
13. Yuan T, Jiao Y, Jong S, et al. An integrative multi-scale analysis of the dynamic DNA methylation landscape in aging. *PLoS Genet* 2015; 11(2):e1004996. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004996>

14. 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. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.016>
15. Fernández AF, Bayón GF, Urdinguio RG, et al. H3K4me1 marks DNA regions hypomethylated during aging in human stem and differentiated cells. *Genome Res* 2015; 25(1): 27–40. <https://doi.org/10.1101/gr.169011.113>
16. Gevry N, Chan HM, Laflamme L, Livingston DM, Gaudreau L. p21 transcription is regulated by differential localization of histone H2A.Z. *Genes Dev* 2007; 21: 1869–1881. <https://doi.org/10.1101/gad.1545707>
17. Kreiling JA, Tamamori-Adachi M, Sexton AN, et al. Age-associated increase in heterochromatic marks in murine and primate tissues. *Aging Cell* 2011; 10(2): 292–304. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2010.00666.x>
18. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(30): 10604–10609. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500398102>
19. Poulsen P, Esteller M, Vaag A, Fraga MF. The epigenetic basis of twin discordance in age-related diseases. *Pediatr Res* 2007; 61(5Pt2): 38R–42R. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31803c7b98>
20. Meyer KF, Verkaik-Schakel RN, Timens W, et al. The fetal programming effect of prenatal smoking on Igf1r and Igf1 methylation is organ- and sex-specific. *Epigenetics* 2017; 21: 1–49. <https://doi.org/10.1080/15592294.2017.1403691>
21. Sharp GC, Arathimos R, Reese SE, et al. Maternal alcohol consumption and offspring DNA methylation: findings from six general population-based birth cohorts. *Epigenomics* 2018; 10(1): 27–42. <https://doi.org/10.2217/epi-2017-0095>
22. Gems D, Partridge L. Stress-response hormesis and aging: “that which does not kill us makes us stronger”. *Cell Metab* 2008; 7: 200–203. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.01.001>
23. Nie B, Gan W, Shi F, et al. Age-dependent accumulation of 8-oxoguanine in the DNA and RNA in various rat tissues. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013; 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/303181> PMID 23738036
24. Hamilton ML, Van Remmen H, Drake JA, et al. Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001; 98(18): 10469–10474. PMID 11517304
25. Chia N, Wang L, Lu X, et al. Hypothesis: environmental regulation of 5-hydroxymethylcytosine by oxidative stress. *Epigenetics* 2011; 6(7): 853–856. <https://doi.org/10.4161/epi.6.7.16461>
26. O'Hagan HM, Wang W, Sen S, et al. Oxidative damage targets complexes containing DNA methyltransferases, SIRT1, and polycomb members to promoter CpG Islands. *Cancer Cell* 2011; 20(5): 606–19. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.09.012>
27. Chen D, Steele AD, Lindquist S, Guarente L. Increase in activity during calorie restriction requires Sirt1. *Science* 2005; 310(5754): 1641. <https://doi.org/10.1126/science.1118357>
28. Bauer JA, Pearson KJ, Price NL, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444(7117): 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature05354>
29. Sharma U, Rando OJ. Metabolic input into the epigenome. *Cell Metab* 2017; 25: 544–558. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.02.003>
30. Saccani S, Natoli G. Dynamic changes in histone H3 Lys9 methylation occurring at tightly regulated inducible inflammatory genes. *Genes Dev* 2002; 16: 2219–2224. <https://doi.org/10.1101/gad.232502>
31. Crisan TO, Netea MG, Joosten LAB. Innate immune memory: implications for host responses to damage-associated molecular patterns. *Eur J Immunol* 2016; 46: 817–828. <https://doi.org/10.1002/eji.201545497>
32. Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, et al. Bacille Calmette-Guerin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 17537–17542. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202870109>
33. Foster SL, Hargreaves DC, Medzhitov R. Gene-specific control of inflammation by TLR-induced chromatin modifications. *Nature* 2007; 447: 972–978. <https://doi.org/10.1038/nature05836>
34. Bullwinkel J, Ludermann A, Debarry J, Singh P.B. Epigenotype switching at the CD14 and CD209 genes during differentiation of human monocytes to dendritic cells. *Epigenetics* 2011; 6: 45–51. <https://doi.org/10.4161/epi.6.1.13314>
35. Kuwahara M, Suzuki J, Tofukuji S, et al. The Menin-Bach2 axis is critical for regulating CD4 T-cell senescence and cytokine homeostasis. *Nat Commun* 2014; 5: 3555. <https://doi.org/10.1038/ncomms4555>
36. Murayama A, Sakura K, Nakama M, et al. A specific CpG site demethylation in the human interleukin 2 gene promoter is an epigenetic memory. *EMBO J* 2006; 25: 1081–1092. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601012>
37. Maier H, Ostraat R, Gao H, et al. Early B cell factor cooperates with Runx1 and mediates epigenetic changes associated with mb-1 transcription. *Nat Immunol* 2004; 5(10): 1069–1077. <https://doi.org/10.1038/ni1119>
38. Linderson Y, Eberhard D, Malin S, et al. Corecruitment of the Grg4 repressor by PU.1 is critical for Pax5-mediated repression of B-cell-specific genes. *EMBO Rep* 2004; 5(3): 291–296. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7400089>
39. Kramer A, Challen GA. The epigenetic basis of hematopoietic stem cell aging. *Sem Hematol* 2017; 54: 19–24. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2016.10.006>
40. Baylis D, Bartlett DB, Patel HP, Roberts HC. Understanding how we age: insights into inflammaging. *Longev Healthspan* 2013; 2(1): 8. <https://doi.org/10.1186/2046-2395-2-8>
41. Lepeule J, Baccarelli A, Motta V, et al. Gene promoter methylation is associated with lung function in the elderly: the Normative Aging study. *Epigenetics* 2012; 7(3): 261–269. <https://doi.org/10.4161/epi.7.3.19216>
42. Ligthart S, Marzi C, Aslibekyan S, et al. DNA methylation signatures of chronic low-grade inflammation are associated with complex diseases. *Genome Biol* 2016; 17(1): 255. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1119-5>
43. Heyn H, Li N, Ferreira HJ, et al. Distinct DNA methylation of newborn and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109:10522–10527. <https://doi.org/10.1073/pnas.1120658109>
44. Zhao M, Qin J, Yin H, et al. Distinct epigenomes in CD4+T cells of newborns, middle-ages and centenarians. *Sci Rep* 2016; 6:38411. <https://doi.org/10.1038/srep38411>
45. Dozmorov MG, Coit P, Maksimowicz-McKinnon K, Sawalha AH. Age-associated DNA methylation changes in naive CD4+T cells suggest an evolving autoimmune epigenotype in aging T cells. *Epigenomics* 2017; 9(4):429–445. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0143>
46. Zhang Z, Deng C, Lu Q, Richardson B. Age-dependent DNA methylation changes in the ITGAL (CD11a) promoter. *Mech Ageing Dev* 2002; 123(9): 1257–68. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(02\)00014-3](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(02)00014-3)
47. Johnson ND, Wiener HW, Smith AK, et al. Non-linear patterns in age-related DNA methylation may reflect CD4+ T cell differentiation. *Epigenetics* 2017; 12(6): 492–503. <https://doi.org/10.1080/15592294.2017.1314419>
48. Garg SK, Delaney C, Toubai T, et al. Aging is associated with increased regulatory T-cell function. *Aging Cell* 2014; 13(3): 441–448. <https://doi.org/10.1111/acel.12191>
49. Horvath S, Pirazzini C, Bacalini MG, et al. Decreased epigenetic age of PBMCs from Italian semi-supercentenarians and their offspring. *Aging* 2015; 7(12): 1159–1166. <https://doi.org/10.18632/aging.100861>
50. McEwen LM, Morin AM, Edgar RD, et al. Differential DNA methylation and lymphocyte proportions in a Costa Rican high longevity region. *Epigenetics Chromatin* 2017; 10: 21–34. <https://doi.org/10.1186/s13072-017-0128-2>