

А.Н. Богданов^{1, 2}, С.В. Волошин^{3, 4, 5}, Е.О. Куневич³, М.А. Михалева³

СТАРЕНИЕ И КЛОНАЛЬНЫЙ ГЕМОПОЭЗ

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9, e-mail: anbtaro2008@yandex.ru; ² Городская больница № 40 Курортного района, 197701, Санкт-Петербург, Сестрорецк, ул. Борисова, 9; ³ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, 191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16; ⁴ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6; ⁵ Ленинградская областная клиническая больница, 194291, Санкт-Петербург, пр. Луначарского, 45, корп. 1, лит. А

С возрастом во всех тканях увеличивается количество соматических мутаций. Лучше всего этот процесс изучен в стволовых кроветворных клетках. Некоторые мутации могут привести к пролиферативному преимуществу и экспансии стволовых кроветворных клеток с образованием клона. Клональное кроветворение широко распространено у пожилых людей. Клональный гемопоэз неопределенного потенциала (КГНП) — феномен, который чаще встречается в пожилом возрасте и характеризуется соматическими мутациями в клетках-предшественниках гемопоэза с формированием нескольких минорных клонов, экспансия которых способна постепенно вытеснить нормальный гемопоэз. Развитие КГНП является независимым фактором риска опухолей системы крови, сердечно-сосудистых заболеваний и общей летальности. При КГНП чаще всего мутируют гены *DNMT3A* и *TET2*, которые участвуют в метилировании ДНК. На основании возрастного изменения метилирования разработаны эпигенетические часы организма человека, позволяющие выявить эпигенетическое старение. Сочетание последнего и КГНП связано с неблагоприятными исходами для здоровья. Дальнейшие исследования позволят понять значение клонального гемопоэза и КГНП в процессе старения и развитии различных заболеваний, определить возможности целенаправленного воздействия на мутировавшие клоны.

Ключевые слова: старение, соматические мутации, стволовые кроветворные клетки, клональный гемопоэз, метилирование ДНК, эпигенетические часы

В начале 2010-х гг. в мире насчитывалось около 500 млн человек старше 65 лет, к 2030 г. их количество превысит 1 млрд, к 2050 г. — 2 млрд [40]. Значительно увеличится и популяция лиц старше 85 лет, у которых особенно высока частота заболеваемости и инвалидизации [24].

Старение связано с неуклонным увеличением количества соматических мутаций практически во всех тканях. Лучше всего этот процесс изучен в стволовых кроветворных клетках (СКК), количество которых у человека составляет 50–200

тыс. [35]. Каждая СКК приобретает приблизительно одну мутацию за десятилетие жизни, поэтому к 70 годам у человека в пуле СКК возможно наличие от 350 тыс. до 1,4 млн мутаций, что соответствует в среднем 70 мутациям на один ген [34].

Большинство мутаций не влияет на функцию СКК, однако некоторые способны обеспечить пролиферативное преимущество и экспансию мутировавшей СКК с образованием клона, что нередко возникает при старении [34]. Мутантные клоны в системе кроветворения оказывают особенно сильное воздействие на организм, поскольку СКК имеют повышенную склонность к мутациям по мере пролиферации в связи с различными физиологическими и патологическими механизмами [6]. Накопление мутаций в сочетании с возрастными изменениями репарации ДНК и снижением регенеративного потенциала может способствовать возникновению клеточных клонов не только в кроветворной системе, но и в других органах и тканях: коже, пищевом тракте, легких, печени, мочевом пузыре, головном мозге, сердечно-сосудистой системе, эндометрии [60].

Клональный гемопоэз возникает, когда СКК или клетка-предшественник приобретает одну или несколько соматических мутаций, которые дают ей конкурентное преимущество в выживаемости по сравнению с клетками без данных мутаций [31] либо вследствие нейтрального дрейфа — случайного изменения частоты определенного аллеля, например при истощении пула СКК [1, 68].

История изучения клонального гемопоэза

Первые сведения о клональном гемопоэзе были получены в 1990-х гг. при изучении случайной инактивации X-хромосомы. В клетках эмбрионов женского пола транскрипция генов инактивируется на одной из двух X-хромосом. Этот феномен представляет собой механизм дозовой компенса-

ции для обеспечения одинаковой продукции генов X-хромосомы в клетках мужчин и женщин [3]. Выбор X-хромосомы, которая будет инактивирована, случаен и сохраняется пожизненно в этой клетке и ее потомках. В результате этого процесса в организме имеется две популяции клеток, экспрессирующих аллели одной или другой X-хромосомы. Нарушение распределения (неслучайная инактивация X-хромосомы) свидетельствует о наличии доминантных клонов [1].

Впервые клональный гемопоэз при опухолях системы крови был обнаружен 50 лет тому назад при изучении женщин, гетерозиготных по глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе [19]. Через 20 лет наличие клонального гемопоэза при гематологических неоплазиях, а также у пожилых женщин без злокачественной опухоли подтверждено при исследовании неслучайной инактивации X-хромосомы с использованием молекулярно-генетических методов [18].

В 2012 г. у 5% пожилых женщин с неслучайной инактивацией X-хромосомы выявлена мутация в гене *TET2*, характерная для клонального кроветворения, при отсутствии патологии системы крови [12]. Другим доказательством предопухоловой клональной экспансии служит выявление мутации *DNMT3A* у взрослых пациентов за многие месяцы и даже годы до развития острого миелоидного лейкоза [53].

Клональный гемопоэз и секвенирование генома

После внедрения технологии высокопроизводительного секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS), позволяющей секвенировать геном человека в течение одного дня, изучать одновременно несколько участков генома, а также определять частотное распределение аллелей, увеличилось количество сообщений о связи клонального гемопоэза с опухолями системы кроветворения, соматическими заболеваниями и старением [1, 25, 26, 34].

В 2014 г. три независимых группы исследователей при изучении экзомов (последовательностей кодирующей части генома) у больших групп пациентов обнаружили высокую частоту мутаций в драйверных генах у пожилых людей без клинических и/или лабораторных проявлений заболеваний системы крови [23, 32, 65]. Был предложен термин «ассоциированный с возрастом клональный гемопоэз» (Age-Related Clonal Hematopoiesis, ARCH) [15]. Через год было введено понятие «клональный гемопоэз неопределенного потенциа-

ла», КГНП (Clonal Hematopoiesis of Indeterminant Potential, CHIP). D.P. Steensma и соавт. [54] предложили определение КГНП, с которым согласны большинство авторов: диагноз КГНП правомочен при наличии по крайней мере одной соматической мутации при частоте вариантного аллеля, ЧВА (Variant Allele Frequency, VAF), то есть доли прочтений данного аллеля в пределах генетического локуса, не менее 2% при отсутствии цитопении или диагностических критериев злокачественного новообразования системы крови.

Частота выявления клонального гемопоэза сильно зависит от чувствительности метода, используемого для его обнаружения: ниже всего — при полногеномном секвенировании и наиболее высокого — при определении частотного распределения аллелей [4, 34].

Полногеномное секвенирование дает возможность исследовать большое количество образцов и проводить секвенирование всего генома, экзома и РНК-секвенирование с охватом небольшого количества клеток, в том числе отдельных клеток [11]. При секвенировании всего генома с высокой вероятностью обнаруживается КГНП с ЧВА >10%, в 50% случаев — при ЧВА 5–10% и крайне редко — при ЧВА <5% [10]. Таким образом, полногеномное секвенирование не позволяет диагностировать все случаи КГНП.

Для преодоления ошибок, которые обычно возникают при полногеномном секвенировании, и повышения чувствительности метода разработан протокол секвенирования с коррекцией ошибок (Error-Corrected Sequencing, ECS), позволяющий выявлять мутации с ЧВА 0,01%, то есть метод обладает в 200 раз более высокой чувствительностью [63]. Значение выявления клонального гемопоэза при низких значениях ЧВА в настоящее время неясно в связи с гетерогенностью этих пациентов [49].

С помощью протокола секвенирования с коррекцией ошибок установлено, что почти у 100% здоровых 50-летних лиц имеется сложный набор клональных мутаций [67]. Клоны в этих случаях обычно небольшие, их клинические последствия неясны. Это открывает перспективы наблюдения за течением КГНП на протяжении всей последующей жизни человека [60].

Варианты клонального гемопоэза

Выделяют следующие варианты клонального гемопоэза (таблица): 1) КГНП (клональное кроветворение, вызванное мутацией в гене-драйвере-

Критерии вариантов клонального гемопоэза и миелодиспластического синдрома [54]

Параметр	Идиопатическая цитопения неясного значения	Клональный гемопоэз неопределенного потенциала	Клональная цитопения неустановленного значения	Миелодиспластический синдром	
				низкого риска	высокого риска
Клональность	–	+	+	+	+
Дисплазия ростков кроветворения	–	–	–	+	+
Цитопения	+	–	+	+	+
Количество бластных клеток в костном мозге, %	<5%	<5%	<5%	<5%	<19%
Общий риск трансформации в острый миелоидный лейкоз	Очень низкий	Очень низкий	Низкий (?)	Низкий	Высокий

ре с ЧВА >2%, при нормальной гемограмме и отсутствии критериев заболевания системы крови); 2) возрастной клональный гемопоэз у пожилого человека, при котором для клональной экспансии не имеет значения тип мутации и уровень аллельной нагрузки, отсутствуют изменения в анализе крови и признаки гематологической неоплазии; 3) клональная цитопения неустановленного значения (критерии — соматические мутации в гене/генах, связанных с опухолями системы крови, отсутствие критериев этих заболеваний, других причин цитопении и молекулярных aberrаций, стойкая цитопения более чем в одном ростке кроветворения, то есть концентрация гемоглобина <100 г/л, количество нейтрофилов <1,8·10⁹/л, количество тромбоцитов <100·10⁹/л); 4) идиопатическая цитопения неустановленного значения (критерии — стойкая цитопения более чем в одном ростке кроветворения, отсутствие критериев миелоидного новообразования и других заболеваний) [7, 26].

Таким образом, при КГНП и возрастном клональном гемопоэзе имеются соматические мутации при отсутствии цитопении и опухоли системы крови, при идиопатической цитопении неустановленного значения — цитопения при отсутствии соматических мутаций, при клональной цитопении неустановленного значения — цитопения и соматические мутации при отсутствии опухоли системы крови [11]. При клональной цитопении неустановленного значения повышается риск трансформации в миелодиспластический синдром, а затем — в острый миелоидный лейкоз [11].

Механизмы клональной экспансии

Старение часто ассоциируется с развитием клонального гемопоэза. Механизмы развития и значение этого феномена будут рассмотрены в следующем разделе статьи.

Внешние клеточные факторы. Для экспансии клонов СКК, в которых произошла мутация, требу-

ются многие годы, но этот процесс ускоряется при воздействии внеклеточных стрессоров, генотоксических агентов и воспалении [26]. Наибольшая нагрузка на кроветворение отмечается после аллогенной трансплантации СКК. Аллогенные СКК быстро приводят к образованию клона у реципиента, оставаясь практически интактными у донора [20]. Другим вероятным модификатором клонального гемопоэза служит воспаление, в частности воздействие IL-6 и интерферона-γ [29].

Иммунная атака. Иммунное разрушение СКК — основа патогенеза приобретенной апластической анемии, при которой клональный гемопоэз наблюдают у 50% больных, у 15% выявляют характерные для клонального гемопоэза мутации генов *DNMT3A* и *ASXL1* [66]. Классическим примером развития клонального гемопоэза является пароксизмальная ночная гемоглобинурия. При этом заболевании клон, возникший из СКК с дефицитом гликозил-фосфатидилинозитола, менее восприимчив к опосредованному Т-клетками уничтожению по сравнению с нормальными СКК [15].

Воспаление. При клональном гемопоэзе отмечено увеличение секреции провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1β), что может объяснить повышение риска сердечно-сосудистых заболеваний [17, 59]. С другой стороны, цитокины способствуют дальнейшей клональной экспансии [17]. Таким образом, роль воспаления при клональном гемопоэзе является двунаправленной: клон способствует системному воспалению, а последующее высвобождение провоспалительных цитокинов приводит к дальнейшей клональной экспансии [44].

Генотоксическая терапия. У пациентов, получающих химио- и лучевую терапию, повышен риск развития миелоидных опухолей, ассоциированных с лечением. Генотоксическая терапия у пациентов, которые имели небольшой клон СКК с мутациями гена *TP53* до начала лечения, приводит к уходу клеток от апоптозных сигналов, приобре-

тению дополнительных дефектов ДНК, росту величины клона и лейкоэмической трансформации [9].

Внутренние дефекты клетки. Развитие клонального гемопоэза может быть механизмом адаптации к внутренним дефектам СКК при наследственной недостаточности костного мозга: синдроме коротких теломер, синдроме Швахмана—Даймонда, мутации *SAMD9/SAMD9L* (синдром МИРАЖ) и анемии Фанкони [26]. Случайные мутации СКК вследствие различных механизмов приводят к соматической реверсии генетического дефекта и позволяют возникшему клону нивелировать наследственные дефекты гемопоэза [26].

Клональный гемопоэз неопределенного потенциала

Понятие о КГНП было введено для того, чтобы отличить незлокачественный клональный гемопоэз, связанный с онкогенными мутациями, от других форм клонального гемопоэза [52]. К критериям КГНП относятся выявление соматических драйверных мутаций, определенный размер клона (ЧВА не менее 2%), отсутствие цитопении и признаков гематологической неоплазии [25, 34, 54]. Развитие клонального гемопоэза возможно и при отсутствии драйверной мутации вследствие нейтрального дрейфа, однако это следует относить к возрастному клональному гемопоэзу [68].

При КГНП имеются ассоциированные с опухолью мутации без выявления явной направленности клона [54]. Термин «неопределенный потенциал» означает неясность развития процесса: при КГНП повышен риск развития опухолей системы крови и ряда других заболеваний, однако в большинстве случаев клональная экспансия носит доброкачественный характер [11].

В 80% случаев при КГНП мутируют гены *DNMT3A*, *TET2*, которые участвуют в метилировании ДНК, и ген *ASXL1*, регулирующий хроматин [33]. Дополнительные мутации, характерные для миелодиспластического синдрома, миелопролиферативных новообразований и острого миелоидного лейкоза, наблюдают в генах *JAK2*, *PPM1D*, *TP53*, *SRSF2* и *SF3B1* и встречаются реже [38].

Установлена взаимосвязь КГНП (рисунок) с возрастом, гематологическими неоплазиями, сердечно-сосудистыми заболеваниями, апластической анемией, солидными опухолями, проведением химио- и лучевой терапии, сахарным диабетом 2-го типа, ХОБЛ [8, 14, 21, 42, 59].

Спектр опухолей системы кроветворения при КГНП включает опухоли из миелоидных, лим-

фоидных и плазматических клеток, что согласуется с вероятным происхождением опухолевых клонов из СКК и мультипотентных клеток-предшественников [31]. Повышенный риск развития опухолей системы крови обусловлен тем, что при КГНП уже имеется «первый удар», необходимый для злокачественной трансформации [34]. Кроме того, при КГНП у больных с солидными опухолями или лимфомами, получавших цитостатическую терапию, повышен риск развития вторичного острого миелоидного лейкоза и летального исхода от прогрессирования первичной опухоли [22, 34, 55].

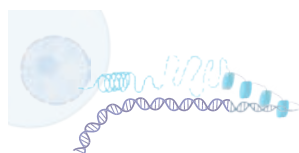
Наличие КГНП сопряжено с 13-кратным повышением риска развития опухолей системы крови [23] и развитием гематологических неоплазий у 0,5–1% пациентов в год [32, 54]. При КГНП на 40% увеличен риск летального исхода, а риск ИБС, ишемического инсульта, инфаркта миокарда и сердечной недостаточности сопоставим с традиционными факторами риска Framingham [38].

Риск ИБС при мутациях генов *DNMT3A*, *TET2* или *ASXL1* вдвое выше по сравнению с лицами без КГНП, при мутации *JAK2* и КГНП — в 12 раз выше риск венозного тромбоза и инсульта [34, 62]. Больные с инфарктом миокарда и сердечной недостаточностью с наличием КГНП, и мутациями *DNMT3A* или *TET2* имеют достоверно меньшую выживаемость, чем пациенты без КГНП [16]. Таким образом, КГНП, вероятно, может расцениваться как предиктор неблагоприятного прогноза при ряде сердечно-сосудистых заболеваний. Является ли КГНП причиной этих ассоциаций или это обусловлено тем, что клональный гемопоэз — установленный маркер биологического старения, остается неясным [34].

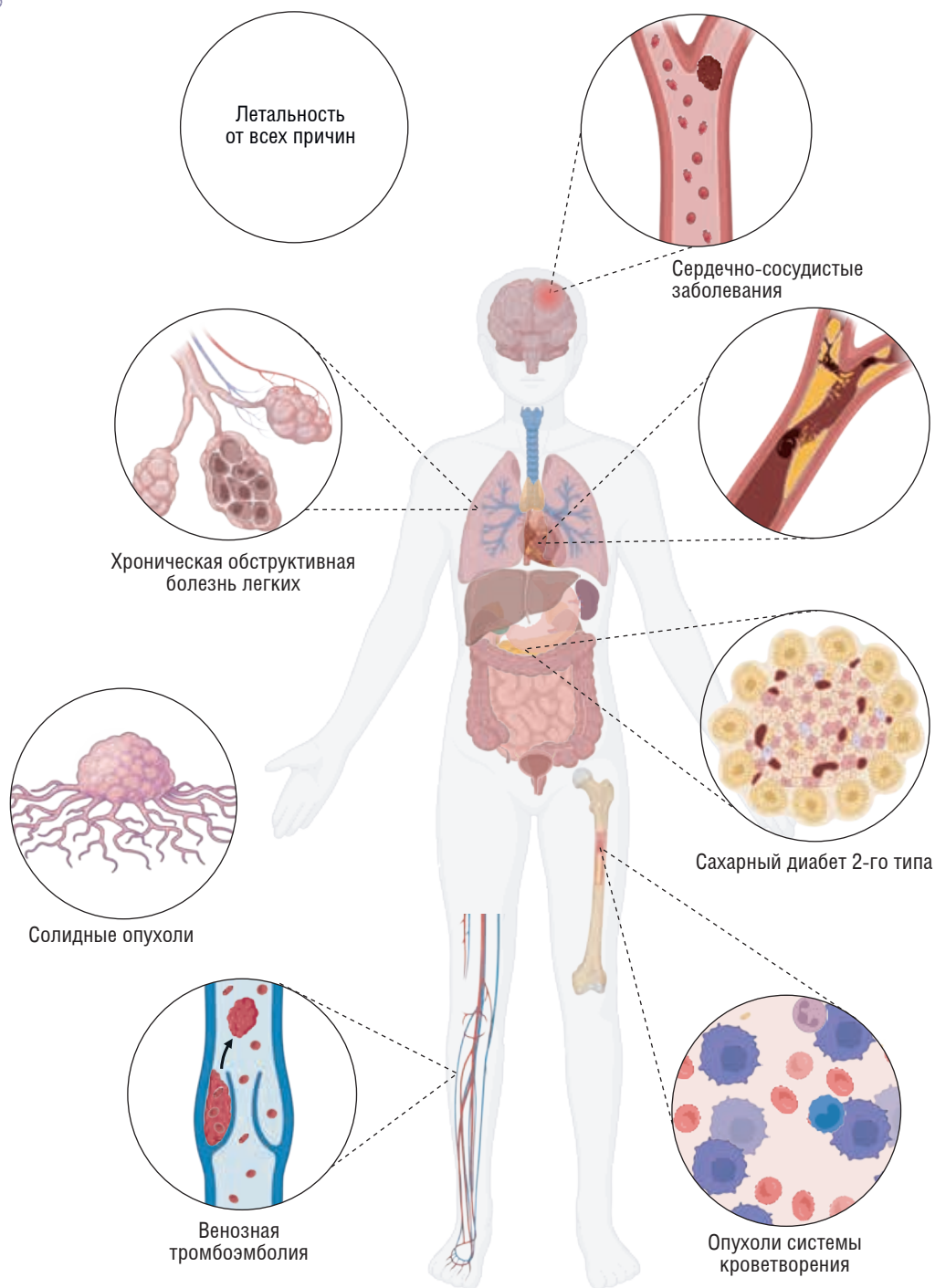
При КГНП на 30% увеличивается риск развития сахарного диабета 2-го типа [34]. Возможна и обратная причинно-следственная связь, поскольку гипергликемия оказывает влияние на развитие или экспансию клонов, нарушая функцию гена *TET2* [64].

Развитие органной дисфункции при КГНП с отсутствием малигнизации возможно, поскольку гемопоэз не имеет пространственных ограничений и клон СКК с мутациями может непрерывно расширяться и давать начало новым клеточным клонам, нарушающим функции системы кроветворения и иммунной системы [33].

В большинстве случаев КГНП является доброкачественным, особенно при небольших размерах клона, отсутствии множественных и драйверных мутаций [40]. Основные факторы риска разви-



Клональный гемопоэз неопределенного потенциала



Взаимосвязь клонального гемопоэза неопределенного потенциала с патологией отдельных органов и систем

тия гематологических и соматических заболеваний при КГНП включают значительный размер клона и более высокую скорость его роста, клональные изменения более чем в одной клеточной линии, множественные драйверные мутации, мутацию гена *TP53*, хромосомные aberrации [41, 49].

Скрининг КГНП у здоровых взрослых лиц в настоящее время нецелесообразен, поскольку риск развития опухоли системы крови или летальности от неопухолевых причин относительно невысок и отсутствуют методы замедления роста клона [54]. При этом сохраняется определенный

интерес к скринингу КГНП у отдельных категорий работников, сталкивающихся с генотоксическими агентами в своей профессиональной деятельности [2]. Обследование для выявления клонального гемопоэза целесообразно проводить у пациентов с врожденными синдромами недостаточности костного мозга (анемия Фанкони, синдром Швахмана—Даймонда и другие) в связи с риском развития миелодиспластического синдрома и острого миелоидного лейкоза [57]. Мониторинг пациентов, у которых случайно обнаружен КГНП, включает проведение периодических анализов крови для выявления цитопении и бластных клеток с целью своевременной диагностики гематологической неоплазии [28]. Проводится поиск критериев для выявления пациентов с КГНП высокого риска, у которых повышен риск опухолей системы крови, заболеваний сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета 2-го типа и ХОБЛ [25, 42].

Клональный гемопоэз и старение

Несмотря на чрезвычайно эффективный механизм репарации ДНК человека, количество мутаций увеличивается по мере старения и приводит к соматическому мозаицизму — образованию клеток с различными генотипами, что особенно характерно для кроветворной системы [48]. Количество клеток с соматическим мозаицизмом при старении увеличивается, но редко приводит к клональному преимуществу. Клональная экспансия развивается по мере старения, увеличения размеров и снижения разнообразия гемопоэтических клонов [1, 33, 43]. Основными причинами клонального гемопоэза и КГНП при старении являются эпигенетические нарушения (изменения метилирования ДНК, которые приводят к ускорению эпигенетического старения) и воспаление [5, 25, 45].

Увеличение клона и снижение клонального разнообразия. Клональный гемопоэз встречается уже в молодом возрасте, однако размер клона обычно невелик, и КГНП обнаруживается лишь у 1% лиц моложе 40 лет [47]. По мере увеличения возраста и размера клона увеличивается риск канцерогенеза и других неблагоприятных событий для здоровья [33].

Особенно увеличивается частота клонального гемопоэза после 60 лет [43]. Ранее считалось, что у лиц старше 70 лет клональный гемопоэз встречается в 10—20% случаев [67, 68]. При глубоком секвенировании колоний, выращенных из СКК-доноров в возрасте от нескольких месяцев до 81 года, установлено, что клоны с ЧВА >1% встре-

чаются практически у всех лиц старше 70 лет [43]. При этом у 15—20% пациентов старше 70 лет ЧВА >2%, то есть соответствует критериям КГНП [34, 44, 47].

Гемопоэз у взрослых в возрасте до 65 лет отличается высоким клональным разнообразием и стабильной популяцией СКК и мультипотентных клеток-предшественников. У лиц 60—70 лет наблюдают резкое снижение разнообразия гемопоэтических клонов [43]. Доля циркулирующих клеток крови, происходящих из одной гемопоэтической линии (то есть одной СКК), может достигать 60% [67, 68]. Большинство клонов начинает экспансию до достижения 40-летнего возраста, при этом лишь 22% клонов имеет известные драйверные мутации [43].

Таким образом, поликлональный гемопоэз со сбалансированным составом множества отдельных клонов сменяется на олигоклональный, однако общее количество зрелых клеток крови практически не изменяется [1].

Изменения метилирования ДНК модифицируют ее доступность для связывания белков, что может индуцировать или подавлять транскрипцию генов. Все цитозины, то есть CpG (области ДНК, где за цитозином следует гуанин) и CpH (где H соответствует аденину, тимину или цитозину) в ДНК, потенциально могут стать метилированными [58]. Метилирование ДНК представляет собой ее ковалентную эпигенетическую модификацию и заключается в присоединении метильных групп к остаткам цитозина в положении C-5 цитозинового кольца [51].

Метилирование ДНК играет важную роль в регуляции транскрипции генов, во время развития и дифференцировки клеток [51], а также представляет собой одну из наиболее изученных эпигенетических модификаций при старении [46]. Для молодых клеток характерно гиперметилирование ДНК по всему геному, за исключением островков CpG — областей генома с высокой частотой сайтов CpG [58]. Ранее считалось, что при старении происходит общее гипометилирование ДНК [46]. Однако в последние годы установлено, что сайты CpG с возрастом могут становиться как гипер-, так и гипометилированными [58]. Возрастные изменения метилирования выявляют в 2% сайтов CpG и 0,5% сайтов CpH, то есть примерно в 800 тыс. из 40 млн сайтов CpG и в 2 млн из 430 млн сайтов CpH [58].

Изменения метилирования ДНК имеют важнейшее значение в развитии КГНП, который

в 80% ассоциирован с мутациями генов *DNMT3A* и *TET2* [26, 58]. Ген *DNMT3A* кодирует метилтрансферазу, ответственную за метилирование ДНК. Утрата функции *DNMT3A* усиливает самообновление СКК и практически не влияет на их дифференцировку, в результате чего увеличивается количество мутировавших СКК и возникает клональное доминирование [13]. Вторым чаще всего мутируемым геном является *TET2*, опосредующий деметилирование ДНК. При нокауте *TET2* увеличивается самообновление СКК, искажается их дифференцировка, что способствует образованию клона. Подобные изменения происходят в результате еще одной частой мутации при КГНП — гена *ASXL1*, регулирующего транскрипцию [26]. Влияние более редких мутаций на преимущество клонального роста изучено недостаточно.

Эпигенетическое старение и эпигенетические часы. Изучение метилирования ДНК улучшило понимание процесса эпигенетического старения. Анализ данных о метилировании ДНК и возрасте пациентов позволил установить, какие сайты CpG в геноме человека связаны с хронологическим возрастом. Было разработано несколько эпигенетических часов, предсказывающих хронологический возраст на основе скорости изменения метилирования сайтов CpG в ДНК в ткани или крови [58]. Эпигенетические часы позволяют выявлять лиц, чей биологический возраст больше хронологического — так называемое возрастное ускорение, которое связано с увеличением риска заболеваемости [36, 60].

Первые широко используемые эпигенетические часы разработаны S. Horvath в 2013 г. Часы Horvath, в которых используются данные о метилировании ДНК на 353 сайтах CpG, предсказывают хронологический возраст со средним отклонением 3,6 года [30].

В том же году G. Hannum и соавт. разработали эпигенетические часы на основе данных о метилировании ДНК на 71 сайте CpG, предсказывающие хронологический возраст со средним абсолютным отклонением 4,9 года [27]. Несмотря на то, что часы Horvath и Hannum являются надежными мерами хронологического возраста, только пять сайтов CpG в них являются общими [58].

В 2014 г. описаны эпигенетические часы, которые могут предсказывать возраст, используя всего три сайта CpG. Авторы сначала сократили набор данных до 102 сайтов CpG, которые сильнее коррелировали с возрастом (среднее абсолютное отклонение составило 3,3 года), затем выбрали три сайта для определения хронологического возраста [61].

Поскольку все эти часы ориентированы на хронологический возраст, дальнейшие исследования были направлены на разработку эпигенетических часов, которые предсказывают биологическое старение за счет включения лабораторных данных (уровень альбумина, креатинина, глюкозы, С-РБ и др.). Полученные в результате часы PhenoAge основаны на анализе 513 сайтов CpG, из которых 41 используется в часах Horvath и 6 — в часах Hannum. Часы PhenoAge сильно коррелируют с хронологическим возрастом ($r=0,94$) и превосходят более ранние эпигенетические часы в прогнозировании риска заболеваемости и смертности [36].

В часах GrimAge используются суррогатные биомаркеры физиологических факторов риска и стресса (адреномедуллин, С-РБ, ингибитор активации плазминогена-1, фактор дифференцировки роста 15, а также количество выкуренных пачек сигарет в год) и данные метилирования ДНК на 450 161 сайте CpG [37]. Часы GrimAge позволяют выявлять возрастное ускорение, прогнозировать время до развития ИБС, рака и летального исхода [37].

Причины ускорения эпигенетического старения недостаточно изучены. Выделяют две категории эпигенетических часов (внутренние и внешние), которые отражают разные аспекты старения. Внутреннее старение не зависит от типа клеток и может быть частично обусловлено числом клеточных делений, внешнее старение связано преимущественно с изменением состава клеток в крови [45]. Часы Horvath отражают внутреннее старение, часы Hannum, PhenoAge и GrimAge — внешнее [45].

Надежный характер эпигенетических часов, основанных на оценке метилирования сайтов CpG, убедительно свидетельствует о том, что изменения в метилировании регулируются в специфических геномных локусах [58].

Ускорение эпигенетического старения и КГНП — два важных феномена старения, связанных с неблагоприятными клиническими исходами [45]. При обследовании 5 522 человек, включая 319 лиц с КГНП, установлена корреляция носительства клонального гемопоэза с ускорением эпигенетического старения по эпигенетическим часам Horvath и GrimAge, количеством мутаций, риском развития ИБС и летального исхода [45].

Воспаление. Низкоинтенсивное системное хроническое воспаление, характерное для лиц пожилого возраста, приводит к дисрегуляции врожденных иммунных и связанных с воспалением механизмов и способствует экспансии мутировавших СКК

и развитию КГНП, а также увеличивает риск возникновения опухолей системы крови [56].

Клетки с чаще всего встречающимися при КГНП мутациями в генах *DNMT3A* и/или *TET2* демонстрируют атипичные ответы на воспаление. При мутации *DNMT3A* клетки более устойчивы к воспалению и обладают селективным преимуществом по сравнению с нормальными [50], клетки с мутацией гена *TET2* демонстрируют повышенную дифференцировку в присутствии провоспалительных цитокинов и более быструю миелолиферацию при микробном воспалении [25, 39]. Таким образом, воспаление может обеспечивать селективное преимущество клеткам с соматическими драйверными мутациями [25], что способствует увеличению риска сердечно-сосудистых и других заболеваний при КГНП [33, 41].

Значение и перспективы изучения клонального гемопоэза

В настоящее время установлена связь клонального гемопоэза и клонального гемопоэза неопределенного потенциала со старением, повышенным риском развития опухолей системы крови, сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний и увеличением общей летальности.

Стоимость полногеномного секвенирования быстро снижается и «геном стоимостью менее 100 долларов» становится реальностью [25]. Необходимо разработать новые методологические подходы к применению высокопроизводительного секвенирования для анализа клонального гемопоэза неопределенного потенциала, сделать экономически оправданными способы обнаружения небольших клонов и определить их значение для выявления пациентов с риском развития опухолевых и неопухолевых заболеваний.

Важной целью является улучшение доказательной базы для оказания медицинской помощи лицам с клональным гемопоэзом неопределенного потенциала. В настоящее время недостаточно доказательств для обоснования скрининга клонального гемопоэза неопределенного потенциала у бессимптомных лиц, отсутствуют данные о его пользе.

Оценка специфических мутаций при клональном гемопоэзе неопределенного потенциала у людей среднего и пожилого возраста позволит выявлять лиц с повышенным риском конкретных заболеваний. С другой стороны, анализ клонального гемопоэза и клонального гемопоэза неопределенного потенциала у долгожителей может дать новую информацию об основных защитных механизмах и их нарушении при старении.

Дальнейшие исследования позволят улучшить понимание роли клонального гемопоэза и клонального гемопоэза неопределенного потенциала при различной патологии человека, определить возможности нивелирования патогенного потенциала мутировавших клонов и увеличения продолжительности жизни человека.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Петинати Н.А., Дризе Н.И. Клональное кроветворение и его роль в развитии гематологических заболеваний // Гематол. и трансфузиол. 2021. Т. 66, № 4. С. 580–592. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2021-66-4-580-592>.
2. Харченко Т.В., Аржавкина Л.Г., Лось С.П. и др. Генотоксическое действие токсикантов, относящихся к химическому оружию, и продуктов их деструкции на соматические клетки человека // Вестн. Рос. ВМА. 2012. Т. 40. 4. С. 266–270.
3. Шевченко А.И. Феномен инактивации X-хромосомы и заболевания человека // Гены и клетки. 2016. Т. 11, № 2. С. 61–68.
4. Acuna-Hidalgo R., Sengul H., Steehouwer M. et al. Ultra-sensitive sequencing identifies high prevalence of clonal hematopoiesis-associated mutations throughout adult life // Amer. J. Hum. Genet. 2017. Vol. 101. P. 50–64. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.05.013>.
5. Ahmad H., Jahn N., Jaiswal S. Clonal hematopoiesis and its impact on humans health // Ann. Rev. Med. 2023. Vol. 74. P. 249–260. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042921-112347>.
6. Al Zouabi L., Bardin A.J. Stem Cell DNA damage and genome mutation in the context of aging and cancer initiation // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2020. Vol. 12, № 10. a036210. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036210>.
7. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia // Blood. 2016. Vol. 127. P. 2391–2405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>.
8. Asada S., Kitamura T. Clonal hematopoiesis and associated diseases: a review of recent findings // Cancer Sci. 2021. Vol. 112, № 10. P. 3962–3971. <https://doi.org/10.1111%2Fcas.15094>.
9. Bernard E., Nannya Y., Hasserjian R.P. et al. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes // Nat. Med. 2020. Vol. 26, № 10. P. 1549–1556. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1008-z>.
10. Bick A.G., Weinstock J.S., Nandakumar S.K. et al. Inherited causes of clonal haematopoiesis in 97691 whole genomes // Nature. 2020. Vol. 586, № 7831. P. 763–768. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2819-2>.
11. Bowman R.L., Busque L., Levine R.L. Clonal hematopoiesis and evolution to hematopoietic malignancies // Cell Stem Cell. 2018. Vol. 22. P.157–170. <https://doi.org/10.1016%2Fj.stem.2018.01.011>.
12. Busque L., Patel J.P., Figueroa M.E. et al. Recurrent somatic TET2 mutations in normal elderly individuals with clonal hematopoiesis // Nat. Genet. 2012. Vol. 44. P. 1179–1181. <https://doi.org/10.1038/ng.2413>.
13. Challen G.A., Goodell M.A. Clonal hematopoiesis: mechanisms driving dominance of stem cell clones // Blood. 2020. Vol. 136, № 14. P. 1590–1598. <https://doi.org/10.1182/blood.2020066510>.
14. Coombs C.C., Zehir A., Devlin S.M. et al. Therapy-related clonal hematopoiesis in patients with non-hematologic cancers is common and associated with adverse clinical outcomes // Cell Stem Cell. 2017. Vol. 21, № 3. P. 374–382. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.07.010>.
15. Cooper J.N., Young N.S. Clonality in context: hematopoietic clones in their marrow environment // Blood. 2017. Vol. 130, № 22. P. 2363–2372. <https://doi.org/10.1182%2Fblood-2017-07-94362>.

16. Dorsheimr L., Assmus B., Rasper T. Association of mutations contributing to clonal hematopoiesis with prognosis in chronic ischemic heart failure // *J.A.M.A. Cardiol.* 2019. Vol. 4. P. 25–33. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2018.3965>.
17. Evans M.A., Sano S., Walsh K. Cardiovascular disease, aging, and clonal hematopoiesis // *Ann. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2020. Vol. 15. P. 419–438. <https://doi.org/10.1146%2Fannurev-pathmechdis-012419-032544>.
18. Fey M.F., Liechti-Gallati S., Von Rohr A. et al. Clonality and X-inactivation patterns in hematopoietic cell populations detected by the highly informative M27 beta DNA probe // *Blood.* 1994. Vol. 83. P. 931–938.
19. Fialkow P.J. The origin and development of human tumors studied with cell markers // *New Engl. J. Med.* 1974. Vol. 291, № 1. P. 26–35. <https://doi.org/10.1056/nejm197407042910109>.
20. Frick M., Chan W., Arends C.M. et al. Role of donor clonal hematopoiesis in allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation // *J. clin. Oncol.* 2019. Vol. 37, № 5. P. 375–385. <https://doi.org/10.1200/jco.2018.79.2184>.
21. Fuster J.J., Zuriaga M.A., Zorita V. et al. TET2-loss-of-function-driven clonal hematopoiesis exacerbates experimental insulin resistance in aging and obesity // *Cell Rep.* 2020. Vol. 33. 108326. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108326>.
22. Gibson C.J., Lindsey R.C., Tchekmedyan V. et al. Clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes after autologous stem-cell transplantation for lymphoma // *J. clin. Oncol.* 2016. Vol. 35. P. 1598–1605. <https://doi.org/10.1200/jco.2016.71.6712>.
23. Genovese G., Kähler A.K., Handsaker R.E. et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence // *New Engl. J. Med.* 2014. Vol. 371. P. 2477–2487. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1409405>.
24. Girelli D., Marchi G., Camaschella C. Anemia in the elderly // *Hemasphere.* 2018. Vol. 2, № 3. P. 40. <https://doi.org/10.1097%2FH9S9.0000000000000040>.
25. Goldman E.A., Spellman P.T., Agarwal A. Defining clonal hematopoiesis of indeterminate potential: evolutionary dynamics and detection under aging and inflammation // *Cold Spring Harb. Molec. Case Stud.* 2023. Vol. 9, № 2. a006251. <https://doi.org/10.1101/mcs.a006251>.
26. Gondek L.P. CHIP: is clonal hematopoiesis a surrogate for aging and other disease? // *Hematol. Amer. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2021. № 1. P. 384–389. <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000270>.
27. Hannum G., Guinney J., Zhao L. et al. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates // *Molec. Cell.* 2013. Vol. 49, № 2. P. 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.016>.
28. Heuser M., Thol F., Ganser A. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential // *Dtsch. Arztebl. Int.* 2016. Vol. 113. P. 317–322. <https://doi.org/10.3238%2Farztebl.2016.0317>.
29. Hormaechea-Agulla D., Matatal K.A., Le D.T. et al. Chronic infection drives dnmt3a-loss-of-function clonal hematopoiesis via IFN γ signaling // *Cell Stem Cell.* 2021. Vol. 28, № 8. P. 1428–1442. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.002>.
30. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types // *Genome Biol.* 2013. Vol. 14, № 10. R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>.
31. Jan M., Eber B.L., Jaiswal S. Clonal hematopoiesis // *Seminars Hematol.* 2017. Vol. 54, № 1. P. 43–50. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2016.10.002>.
32. Jaiswal S., Fontanillas P., Flannick J. et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes // *New Engl. J. Med.* 2014. Vol. 371. P. 2488–2498. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1408617>.
33. Jaiswal S., Natarajan P., Silver A. et al. Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease // *New Engl. J. Med.* 2017. Vol. 377, № 2. P.111–121. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1701719>.
34. Jaiswal S., Ebert B.L. Clonal hematopoiesis in human aging and disease // *Science.* 2019. Vol. 366, № 6465. eaan4673. <https://doi.org/10.1126/science.aan4673>.
35. Lee-Six H., Obro N.F., Shepherd M.S. et al. Population dynamics of normal human blood inferred from somatic mutations // *Nature.* 2018. Vol. 566. P. 473–478. <https://doi.org/10.1038%2Fs41586-018-0497-0>.
36. Levine M.E., Lu A.T., Quach A. et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and health span // *Aging (Albany NY).* 2018. Vol. 10, № 4. P. 573–591. <https://doi.org/10.18632%2Faging.101414>.
37. Lu A.T., Quach A., Wilson J.G. et al. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and health span // *Aging.* 2019. Vol. 11. P. 303–327. <https://doi.org/10.18632/aging.101684>.
38. Marnell C.S., Bick A., Natarajan P. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP): linking somatic mutations, hematopoiesis, chronic inflammation and cardiovascular disease // *Molec. Cell Cardiol.* 2021. Vol. 161. P. 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2021.07.004>.
39. McClatchy J., Strogantsev R., Wolfe E. et al. The transcriptional and epigenetic reprogramming mediated by chronic IL1 β exposure drives self-renewal ability and myeloid priming in TET2 deficient stem and progenitor cells (preprint) // *bioRxiv.* 2023. P. 1–52. <http://dx.doi.org/10.1101/2022.09.15.507688>.
40. Merchant A.A., Roy C.N. Not so benign haematology: anaemia of the elderly // *Brit. J. Haematol.* 2012. Vol. 156, № 2. P. 173–185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08920.x>.
41. Miller P.G., Steensma D.P. Implications of clonal hematopoiesis for precision oncology // *JCO Precis Oncol.* 2020. Vol. 4. P. 639–646. <https://doi.org/10.1200/po.20.00144>.
42. Miller P.G., Qiao D., Rojas-Quintero J. Association of clonal hematopoiesis with chronic obstructive pulmonary disease // *Blood.* 2022. Vol. 139. P. 357–368. <https://doi.org/10.1182/blood.2021013531>.
43. Mitchell E., Chapman M.S., Williams N. et al. Clonal dynamics of haematopoiesis across the human lifespan // *Nature.* 2022. Vol. 606. P. 343–350. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04786-y>.
44. Mooney L., Goodyear C.S., Chandra T. et al. Clonal haematopoiesis of indeterminate potential: intersections between inflammation, vascular disease and heart failure // *Clin. Sci. (Lond).* 2021. Vol. 135, № 7. P. 991–1007. <https://doi.org/10.1042/cs20200306>.
45. Nachun D., Lu A.T., Bick A.G. et al. Clonal hematopoiesis associated with epigenetic aging and clinical outcomes // *Aging Cell.* 2021. Vol. 20, № 6. e13366. <https://doi.org/10.1111/ace1.13366>.
46. Pal P., Tyler J.K. Epigenetics and aging // *Sci. Adv.* 2016. Vol. 2, № 7. e1600584. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600584>.
47. Papa V., Marracino L., Fortini F. et al. Translating evidence from clonal hematopoiesis to cardiovascular disease: a systematic review // *J. clin. Med.* 2020. Vol. 9, № 8. P. 2480. <https://doi.org/10.3390%2Fjcm9082480>.
48. Risques R.A., Kennedy S.R. Aging and the rise of somatic cancer-associated mutations in normal tissues // *PLoS Genet.* 2018. Vol. 14, № 1. e1007108. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007108>.
49. Robertson N.A., Latorre-Crespo E., Terradas-Terradas M. et al. Longitudinal dynamics of clonal hematopoiesis identifies gene-specific fitness effects // *Nat. Med.* 2022. Vol. 28. P. 1439–1446. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01883-3>.
50. San Miguel J.M., Eudy E., Loberg M.A. et al. Distinct tumor necrosis factor alpha receptors dictate stem cell fitness versus lineage output inDnmt3a-mutant clonal hematopoiesis // *Cancer Discov.* 2022. Vol. 12. P. 2763–2773. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-22-0086>.
51. Salameh Y., Bejaoui Y., Hajj N.E. DNA Methylation biomarkers in aging and age-related diseases // *Front. Genet.* 2020. Vol. 11. P. 171. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00171>.
52. Silver A.J., Jaiswal S. Clonal hematopoiesis: pre-cancer PLUS // *Adv. Cancer Res.* 2019. Vol. 141. P. 85–128. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2018.12.003>.
53. Shlush L.I., Zandi S., Mithcell A. et al. Identification of pre-leukaemic hematopoietic stem cells in acute leukaemia // *Nature.* 2014. Vol. 506. P. 328–333. <https://doi.org/10.1038/nature13038>.
54. Steensma D.P., Bejar R., Jaiswal S. et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelo-

- dysplastic syndromes // *Blood*. 2015. Vol. 126. P. 9–16. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-03-631747>.
55. Takahashi K., Wang F., Kantarian H. et al. Preleukaemic clonal haemopoiesis and risk of therapy-related myeloid neoplasms: a case-control study // *Lancet Oncol*. 2017. Vol. 18. P. 100–111. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(16\)30626-x](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(16)30626-x).
56. Trowbridge J.J., Starczynowski D.T. Innate immune pathways and inflammation in hematopoietic aging, clonal hematopoiesis, and MDS // *J. exp. Med*. 2021. Vol. 218. e20201544. <https://doi.org/10.1084/jem.20201544>.
57. Tsai F.D., Lindsley R.C. Clonal hematopoiesis in the inherited bone marrow failure syndromes // *Blood*. 2020. Vol. 136, № 14. P. 1615–1622. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2021.101273>.
58. Unnikrishnan A., Freeman W.M., Jackson J. et al. The role of DNA methylation in epigenetics of aging // *Pharmacol. Ther*. 2019. Vol. 95. P. 172–185. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.11.001>.
59. Van Zeventer I.A., Salzbrunn J.B., de Graaf A.O. et al. Prevalence, predictors, and outcomes of clonal hematopoiesis in individuals aged ≥80 years // *Blood Adv*. 2021. Vol. 5. P. 2115–2122. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020004062>.
60. Walsh K., Raghavararac N., Kerr C. et al. Clonal hematopoiesis analyses in clinical, epidemiologic, and genetic aging studies to unravel underlying mechanisms of age-related dysfunction in humans // *Front. Aging*. 2022. Vol. 3. 841796. <https://doi.org/10.3389/fragi.2022.841796>.
61. Weidner C.I., Lin Q., Koch C.M. et al. Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites // *Genome Biol*. 2014. Vol. 15, № 2. R24. <https://doi.org/10.1186/gb-2014-15-2-r24>.
62. Wolach O., Sellar R.S., Martinod K. et al. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms // *Sci. Translat. Med*. 2018. Vol. 436, № 10. eaan8992. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan8292>.
63. Wong W.H., Tong R.S., Young A.L., Druley T.E. Rare event detection using error-corrected DNA and RNA sequencing // *J. Vis. Exp*. 2018. Vol. 138. 57509. <https://doi.org/10.3791/57509>.
64. Wu D., Hu D., Chen H. et al. Glucose-regulated phosphorylation of TET2 by AMPK reveals a pathway linking diabetes to cancer // *Nature*. 2018. Vol. 559. P. 637–641. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0350-5>.
65. Xie M., Lu C., Wang J. et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies // *Nat. Med*. 2014. Vol. 20. P. 1472–1478. <https://doi.org/10.1038/nm.3733>.
66. Yoshizato T., Dumitriu B., Hosokawa K. et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in aplastic anemia // *New Engl. J. Med*. 2015. Vol. 373, № 1. P. 35–47. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1414799>.
67. Young A.L., Challen G.A., Birmann B.M., Druley T.E. Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults // *Nat. Commun*. 2016. Vol. 7. 12484. <https://doi.org/10.1038/ncomms12484>.
68. Zink F., Stacey S.N., Norddahl G.L. et al. Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly // *Blood*. 2017. Vol. 130, № 6. P. 742–752. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-02-769869>.

Поступила в редакцию 17.11.2023

После доработки 08.04.2024

Принята к публикации 11.04.2024

Adv. geront. 2024. Vol. 37, № 3. P. 266–275

A.N. Bogdanov^{1,2}, S.V. Voloshin^{3,4,5}, E.O. Kunevich³, M.A. Mikhaleva³

AGING AND CLONAL HEMATOPOESIS

¹ Saint-Petersburg State University, 7–9 University embankment, St. Petersburg 199034, e-mail: anbmapo2008@yandex.ru; ² City Hospital № 40, 9 Borisov str., Sestroretsk, St. Petersburg 197701; ³ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2nd Sovetskaya str., St. Petersburg 191024; ⁴ S.M. Kirov Military Medical Academy, 6 Akademik Lebedev str., St. Petersburg 194044; ⁵ Leningrad Regional Clinical Hospital, 45 bldg. 1 lit. A Lunacharskogo ave., St. Petersburg 194291

The number of somatic mutations among all tissues increases along with age. This process was well-studied in hematopoietic stem cells (HSCs). Some mutations lead to a proliferative advantage and expansion of HSCs to form a dominant clone. Clonal hematopoiesis is general in the elderly population. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) is a more common phenomenon in the elderly and is defined as somatic mutations in clonal blood cells without any other hematological malignancies. The development of CHIP is an independent risk factor for hematological malignancies, cardiovascular diseases, and reduced overall survival. CHIP is frequently associated with mutations in *DNMT3A* and *TET2* genes involved in DNA methylation. The epigenetic human body clocks have been developed based on the age-related changes in methylation, making it possible to detect epigenetic aging. The combination of epigenetic aging and CHIP is associated with adverse health outcomes. Further research will reveal the significance of clonal hematopoiesis and CHIP in aging, acquiring various diseases, and determining the feasibility of influencing the mutagenic potential of clones.

Key words: aging, somatic mutations, hematopoietic stem cell, clonal hematopoiesis, DNA methylation, epigenetic clocks