

УДК 577.21

# Роль L-аскорбиновой кислоты в эпигенетической регуляции онкогенеза и репрограммирования стволовых клеток

А. П. Ковина, Н. В. Петрова, С. В. Разин, О. Л. Кантидзе\*

Институт биологии гена РАН, Москва, 119334 Россия

\*E-mail: kantidze@gmail.com

Поступила в редакцию 26.06.2020

Принята к печати 07.09.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11060

**РЕФЕРАТ** В последние годы появляется все больше данных о молекулярных механизмах, лежащих в основе физиологического действия L-аскорбиновой кислоты (ASC, витамин С). Наиболее важными выглядят исследования, проливающие свет на роль ASC в регуляции редокс-статуса и эпигенома живой клетки. Это связано с тем, что на основании обнаруженных механизмов работы ASC можно выработать стратегии эффективного клинического использования ASC в терапии онкологических заболеваний и регенеративной медицине. В обзоре рассмотрено, каким образом ASC может влиять на эпигенетический статус клетки и как эти возможности ASC можно использовать в терапии опухолей и репрограммировании стволовых клеток.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** витамин С, рак, стволовые клетки, эпигенетика, хроматин.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** 5hmC – 5-гидроксиметилцитозин; 5mC – 5-метилцитозин;  $\alpha$ -KG –  $\alpha$ -кетоглутарат; AML – острый миелоидный лейкоз; ASC – L-аскорбиновая кислота; BETi – бромодомен и экстрагерминальные ингибиторы; DHA – дегидроаскорбиновая кислота; DNMT – ДНК-метилтрансфераза; DNMTi – ингибиторы ДНК-метилтрансфераз; GSH – глутатион; Gulo – L-гулонолактоноксидаза; IDH – изоцитратдегидрогеназа; KGDD –  $\alpha$ -KG-зависимая диоксигеназа; MEF – эмбриональные фибробласты мыши; P4H – коллаген-пролил-4-гидролаза; PARP – поли(ADP-рибоза)-полимераза; TET – Ten-Eleven Translocation диоксигеназа; ИПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

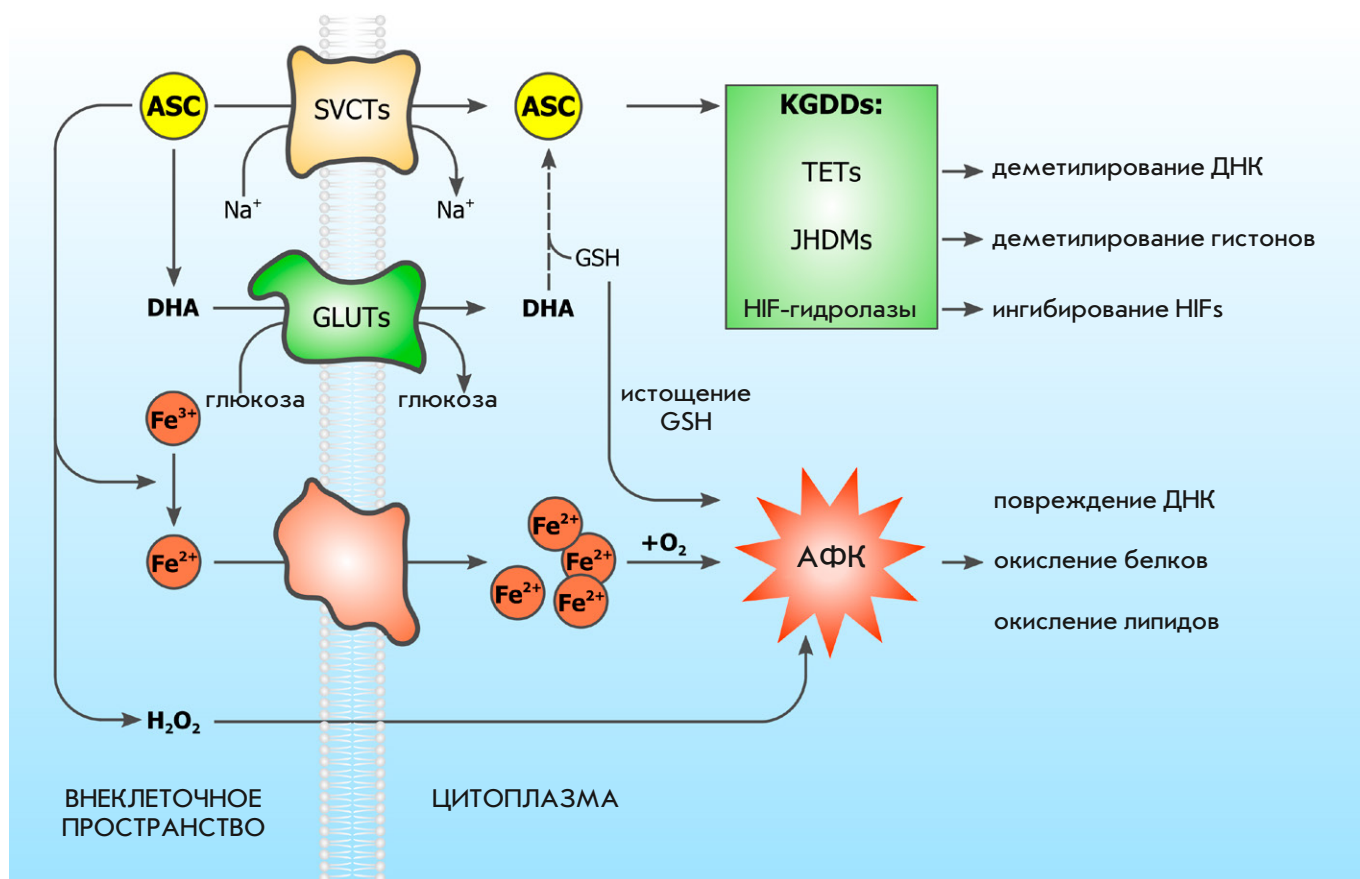
## ВВЕДЕНИЕ

L-аскорбиновая кислота (ASC, витамин С) относится к незаменимым водорастворимым витаминам. В отличие от большинства млекопитающих, приматы, морские свинки и крыланы утратили способность синтезировать ASC из-за мутации в гене L-гулонолактоноксидазе (Gulo), катализирующей последнюю стадию синтеза ASC из глюкозы [1]. Концентрация ASC в организме человека регулируется сразу несколькими механизмами, обеспечивающими его содержание в плазме не более 80 мкМ (при пероральном поступлении) [2]. При этом в большинстве клеток млекопитающих поддерживаются высокие концентрации внутриклеточного ASC, которые могут достигать 1–10 мМ. За активный транспорт ASC внутрь клеток ответственны натрийзависимые транспортеры SVCT1 и 2 (рисунки), дифференциально экспрессирующиеся в разных тканях [3].

ASC является хорошим восстановителем, т.е. донором электронов. Отдавая первый электрон, ASC превращается в аскорбильный радикал, который от-

носительно стабилен и неактивен. При потере двух электронов в ходе двух раундов окисления ASC превращается в дегидроаскорбиновую кислоту (DHA), которая может поглощаться и секретироваться клеткой с помощью переносчиков глюкозы GLUT1, 2, 3 и 8 (рисунки) [4]. Внутри клетки DHA может быстро восстановиться до ASC, реагируя с восстановленным глутатионом (GSH) (рисунки) [4]. В плазме крови преобладает восстановленная форма ASC, а концентрация DHA находится на очень низком уровне [5].

В микромолярных концентрациях ASC может выполнять функцию антиоксиданта. ASC служит кофактором целого ряда монооксигеназ и  $\text{Fe}^{2+}$ / $\alpha$ -кетоглутарат ( $\alpha$ -KG)-зависимых диоксигеназ (KGDD), выступая в качестве донора электронов (рисунки) [6]. Классический пример  $\alpha$ -KG-зависимых диоксигеназ – коллаген-пролил-4-гидролаза (P4H), которая хорошо изучена благодаря тому, что при снижении ее активности развивается цинга. Накопление ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , обусловленное действием этого фермента, приводит к подавлению активности P4H и, как след-



Роль ASC в модуляции эпигенетического и редокс-статусов клетки (подробнее см. текст). АФК – активные формы кислорода; ASC – аскорбиновая кислота; DHA – дегидроаскорбиновая кислота; GLUT – транспортеры глюкозы; GSH – глутатион; HIF – индуцируемые гипоксией транскрипционные факторы; JHDM – JmjC-содержащие гистондеметилазы; KGDD –  $\alpha$ -кетоглутарат-зависимые диоксигеназы; SVCT – транспортеры Na<sup>+</sup> и ASC; TET – диоксигеназы метилцитозина

ствие, к неполному гидроксигированию остатков пролина в молекуле коллагена, aberrантному сшиванию коллагена и развитию признаков цинги [7]. ASC обладает способностью восстанавливать окисленные ионы Fe<sup>3+</sup> до каталитически активного Fe<sup>2+</sup> и предотвращает таким образом развитие цинги. Будучи кофактором KGDD, ASC влияет на такие важные биологические функции, как синтез катехоламинов, сшивание коллагена, репарация алкилированной ДНК и деградация индуцируемого гипоксией фактора 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). Особую группу KGDD составляют ферменты, которые катализируют гидроксигирование метилированных нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и метилированных гистонов. Некоторым из этих диоксигеназ ASC необходим в качестве кофактора в процессах деметилирования гистонов и ДНК. Обнаружение ASC-зависимых KGDD, участвующих в гидроксигировании метилированных оснований нуклеиновых кислот и аминокислотных остатков гистонов, свидетельствует о роли ASC в эпигенетической регуляции экспрессии генов.

### ASC И МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК

Метилирование цитозина по пятой позиции (5-метилцитозин, 5mC) – наиболее изученная модификация ДНК у млекопитающих, играет важную роль в эпигенетической регуляции экспрессии генов. Метилирование CpG-нуклеотидов в промоторах обычно связано с репрессией транскрипции и участвует во многих процессах, включая инактивацию X-хромосомы и импринтинг. 5mC – это очень стабильная эпигенетическая метка, удаление которой может происходить двумя путями: пассивным и активным. При пассивном удалении происходит разбавление метки в ходе репликации ДНК в отсутствие поддерживающей ДНК-метилтрансферазы (DNMT1) [8], активное же деметилирование связано с группой ферментов Ten-Eleven Translocation (TET), включающей TET1–3 [9]. TET представляют собой Fe<sup>2+</sup>/ $\alpha$ -KG-зависимые диоксигеназы, способные последовательно окислять 5mC до 5-гидроксиметилцитозина (5hmC), 5-формилцитозина (5fC) и 5-карбоксито-

зина (5caC), которые опознаются и удаляются ферментами репарации ДНК [10, 11]. В отличие от 5fC и 5caC, 5hmC относительно стабилен, он может выполнять собственную эпигенетическую функцию, так как существует группа регуляторных белков, способных к специфическому узнаванию и взаимодействию с 5hmC [10].

Поскольку известно, что ASC служит кофактором некоторых  $Fe^{2+}/\alpha$ -KG-зависимых диоксигеназ, предположили, что он может быть кофактором и ТЕТ-опосредованного деметилирования ДНК. Действительно, оказалось, что добавление ASC в среду культивирования вызывает деметилирование нескольких тысяч генов в эмбриональных стволовых клетках (ЭСК) человека [12]. В этой связи уместно напомнить, что ASC способствует образованию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) из терминально дифференцированных клеток, которое сопровождается деметилированием всего генома [13, 14]. Показано, что *in vivo* ASC усиливает генерацию 5hmC в культивируемых клетках. Скорее всего, ASC действует в качестве кофактора ТЕТ в реакции гидроксирования 5mC [15, 16], так как добавление ASC дозозависимо увеличивает количество 5hmC в эмбриональных фибробластах мыши (MEF), и этот эффект пропадает на фоне нокаута ТЕТ. Наблюдения, указывающие на участие ASC в деметилировании ДНК, сделаны на разных типах клеток, а также с использованием модельных животных [17–19].

Интересно, что в стандартных культуральных средах ASC отсутствует, и содержание 5hmC в культивируемых клетках обычно очень мало. Добавление ASC быстро усиливает образование 5hmC [20, 21]. Это позволило предположить, что синтез белка для этого не требуется, но происходит активация уже существующих ТЕТ-диоксигеназ [16]. Опубликованы результаты и других экспериментальных работ, согласно которым ASC необходим именно в качестве кофактора ТЕТ, а не просто восстановителя. Так, добавление другого восстановителя – GSH – не изменяло уровень 5hmC; это свидетельствует о том, что влияние ASC на генерацию 5hmC нельзя отнести к его роли в качестве общего восстановителя [16]. У мышей с нокаутом гена *Gulo* (*Gulo*<sup>-/-</sup>), необходимого для биосинтеза ASC, наблюдалось снижение количества 5hmC в различных тканях [19]. Показано также, что ASC значительно повышает уровни всех продуктов окисления 5mC, в том числе 5fC и 5caC [17, 19]. ASC может влиять и непосредственно на работу белков семейства ТЕТ, взаимодействуя с С-концевым каталитическим доменом ферментов, что, вероятно, способствует их правильному сворачиванию и/или возможности повторного использования  $Fe^{2+}$  [19].

Таким образом, получены убедительные свидетельства того, что ASC действует как кофактор ТЕТ-диоксигеназ при окислении 5mC – первого этапа процесса активного деметилирования ДНК.

### ASC И МЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНОВ

Метилирование остатков лизина и аргинина в составе гистонов является важным эпигенетическим инструментом. Если ацетилирование гистонов обычно считается активирующей модификацией, то метилирование можно рассматривать как маркер и активного (например, H3K4, H3K36 и H3K79), и неактивного (например, H3K9, H3K27 и H4K20) хроматина [22]. Как и метилирование ДНК, метилирование гистонов сначала считали необратимой посттрансляционной модификацией. В начале 2000-х годов были открыты лизинспецифичные деметилазы гистонов KDM1A (LSD1) и KDM1B (LSD2), которые способны деметилировать только моно- и ди-, но не триметилированные остатки лизина в молекуле гистона [23, 24]. Однако позднее обнаружили фермент KDM4A (JHDM3A), способный удалять и третью метильную группу с остатков лизина 9 и 36 в молекуле гистона H3 [25]. В дальнейшем нашли другие похожие ферменты, которые, как и KDM4A, содержали в своем составе домен Jumonji C (JmjC). Этот каталитический домен обеспечивает гидроксиллазную активность деметилаз, необходимую для деметилирования аминокислотных остатков в составе гистонов [26]. Деметилазы с JmjC-доменом также относятся к семейству  $Fe^{2+}/\alpha$ -KG-зависимых диоксигеназ, общие принципы работы и кофакторы которых рассмотрены выше [25, 27].

Оказалось, что JmjC-содержащим ферментам также требуется ASC. *In vitro* ASC необходим как для KDM2A, так и для KDM3A (JHDM2A): активность этих ферментов коррелировала с количеством ASC в реакционном буфере [27], при этом KDM4A в экспериментах *in vitro* полностью терял каталитическую активность при удалении ASC из среды [25].

Изучение дифференцировки различных клеток показало, что в отсутствие ASC этот процесс существенно нарушается, что связано с неспособностью клеток контролировать уровень репрессивных модификаций гистонов. Так, по ходу эндотелиально-гемопоэтического перехода отсутствие ASC приводит к накоплению H3K27me3 в геномных локусах, важных для кроветворения [28]. Избыток ASC определяет потерю диметилирования гистона H3 по лизину 9 (H3K9me2) внутри протяженных геномных доменов в эмбриональных стволовых клетках мыши (LOCK-домены [29]), что, по-видимому, обусловлено стимуляцией работы деметилаз Kdm3a и Kdm3b [30]. Добавление ASC к Т-лимфоцитам приводит к снижению уровня H3K9me3 в *cis*-регуляторных

элементах локуса гена интерлейкина-17 (IL-17) в силу активации гистондеметиلاзы KDM4A и соответственно к увеличению экспрессии IL-17 [31]. Кроме того, показано, что ASC стимулирует деметиляцию гистонов как на начальных этапах перепрограммирования соматических клеток в ИПСК [32], так и при переходе от пре-ИПСК к полностью перепрограммированным ИПСК [33, 34]. Все эти наблюдения позволяют полагать, что ASC является кофактором JmJc-содержащих гистондеметилаз и модулирует деметиляцию гистонов, скорее всего, путем регенерации каталитически активного Fe<sup>2+</sup>.

### ASC И PAK

Любые низкомолекулярные вещества, способные модифицировать эпигенетические профили, рассматриваются как потенциальные противоопухолевые агенты. Вопрос о том, может ли ASC использоваться в качестве противоопухолевого средства, обсуждается на протяжении десятилетий. Интерес к возможному применению ASC в терапии опухолей возник еще в 1970-е годы, когда Полинг и Кэмерон сообщили о повышении выживаемости больных с терминальными стадиями рака при внутривенном введении ASC (10 г ежедневно), но впоследствии попытки повторить эти результаты не увенчались успехом [35]. Связано это было со способом доставки ASC: в более поздних исследованиях применяли пероральный прием, который не позволял достичь терапевтически значимых высоких концентраций ASC в крови [36]. Дальнейшие исследования привели к возникновению новых гипотез о возможных механизмах противоопухолевого действия ASC. Как и при использовании других химиотерапевтических средств, разные типы опухолей проявляют разную чувствительность к цитотоксичному эффекту ASC [37]. Концентрации ASC в районе 2–5 мМ уже достаточны для того, чтобы уменьшить выживаемость большинства раковых клеток, культивируемых *in vitro*, на 50%. В то же время многие нераковые клетки сохраняют нормальную жизнедеятельность при концентрациях ASC около 20 мМ [37]. Выявлена гетерогенность ответа опухолевых клеток на ASC: около 10–15% типов раковых клеток нечувствительны к ASC даже в концентрации 20 мМ.

### Возможные механизмы противоопухолевого действия ASC

Механизмы противоопухолевого действия ASC можно разделить на две группы: механизмы, влияющие на редокс-биологию; и механизмы, связанные с функцией ASC в качестве кофактора α-KG-зависимых диоксигеназ (рисунки).

В первую группу входят два механизма, которые не являются взаимно исключаящими, а их совмест-

ное действие может быть причиной токсичности ASC для опухолевых клеток. Прооксидантные свойства ASC в миллимолярных (фармакологических) концентрациях могут приводить к увеличению количества нерепарируемых повреждений опухолевой клетки. ASC ускоряет Fe<sup>2+</sup>-зависимую продукцию гидроксильного радикала ( $\cdot\text{OH}$ ) из H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> за счет окисления ионов Fe<sup>3+</sup> в ионы лабильного железа (Fe<sup>2+</sup>), тем самым непрерывно генерируя активные формы кислорода (АФК) и способствуя гибели клеток [38]. Кроме того, самопроизвольное автоокисление ASC кислородом может приводить к накоплению H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, большие концентрации которого вызывают гибель клеток (*рисунки*) [37, 39, 40].

Второй механизм этой группы – внеклеточное окисление ASC в DHA, которая структурно похожа на глюкозу и транспортируется в клетки через транспортеры GLUTs, что способствует увеличению внутриклеточного пула DHA. Опухолевые клетки могут транспортировать DHA внутрь клетки, где она восстанавливается до ASC, что ведет к истощению пула глутатиона, NADH- и NADPH-зависимых ферментов [4]. Это, в свою очередь, вызывает развитие окислительного стресса, инактивацию глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы, ингибирует гликолиз, уровень которого повышен в опухолевых клетках, и приводит к энергетическому кризису, губительному для клеток (*рисунки*) [41, 42].

В качестве кофактора Fe<sup>2+</sup>/α-KG-зависимых диоксигеназ ASC также может существенно влиять на жизнеспособность опухолевых клеток. Индуцируемые гипоксией транскрипционные факторы (HIF) увеличивают экспрессию генов, отвечающих за успешную адаптацию опухолевых клеток к гипоксии, обусловленной быстрым делением клеток и недостаточным образованием кровеносных сосудов в растущей опухоли [43]. Активность HIF контролируется HIF-гидроксилазами, которые в нормальных условиях (при нормоксии) модифицируют субъединицы этих факторов, что способствует их протеасомной деградации [44]. HIF-гидроксилазы принадлежат к семейству диоксигеназ, кофактором которых может быть ASC [45]. При дефиците ASC в клетках снижена HIF-гидроксилазная активность, а значит, увеличен уровень транскрипции HIF-факторов, особенно при легкой или умеренной гипоксии [46–48]. Эти наблюдения позволили предположить, что добавление ASC к раковым клеткам может стимулировать активность HIF-гидроксилаз и снижать активность HIF, замедляя тем самым темпы роста опухоли (*рисунки*) [49, 50].

В качестве кофактора ферментов семейства Fe<sup>2+</sup>/α-KG-зависимых диоксигеназ ASC влияет на эпигенетические изменения, которые часто нераз-



ривно связаны с развитием рака (*рисунок*). Известны важные эпигенетические изменения, характерные для онкологических заболеваний. Во-первых, одним из маркеров рака является глобальное гипометилирование ДНК, которое может активировать транскрипцию транспозонов и онкогенов, а это приводит к изменению экспрессии генов и, в дальнейшем, к онкогенезу [51]. Во-вторых, гиперметилирование промоторов генов опухолевых супрессоров. Недавно показали, что уровень гидроксиметилирования (5hmC) также может меняться при некоторых типах рака [10]. Возможности использования ASC для модуляции эпигенетического статуса опухолевых клеток подробно рассмотрены в следующем разделе.

### **Биомаркеры для использования ASC в противоопухолевой терапии**

Роли ASC в модуляции профилей метилирования ДНК и гистонов в последнее время уделяется все больше внимания в связи с тем, что ASC является кофактором ферментов, участвующих в деметилировании ДНК (TET) и гистонов (JmJc-содержащие деметилазы) [9, 52]. Изменения уровней экспрессии этих ферментов и/или мутации в них обнаружены как в различных солидных опухолях, так и при гематологических злокачественных новообразованиях. Поскольку обычно мутации затрагивают только одну копию гена, то добавление ASC может компенсировать действие этой мутации путем увеличения активности оставшегося немутантного фермента [52].

Мутации генов *TET* наблюдаются при злокачественных гематологических новообразованиях – как при миелоидных, так и при лимфоидных [53], и обычно приводят к гиперметилированию ДНК [54–56]. ASC при этом действует как эпигенетический модулятор: в опухолевых клетках, обработанных ASC, увеличивается активность TET, что приводит к деметилированию ДНК, и повышается экспрессия опухолевых генов-супрессоров, таких, например, как *Smad1* [55].

Мутации при онкологических заболеваниях часто затрагивают гены, непосредственно связанные с активностью TET. Так, изоцитратдегидрогеназы IDH1 и IDH2, которые необходимы для продукции кофактора TET  $\alpha$ -KG, часто мутированы при гематологических злокачественных новообразованиях, а также в некоторых подтипах глиом и солидных опухолей [57]. В большинстве случаев эти мутации приводят к повышенному уровню 2-гидроксиглутарата и, как следствие, к гиперметилированию ДНК и снижению уровня 5hmC. На мышинных и клеточных моделях лейкоза, вызванного мутациями в генах *TET2* или *IDH1*, проведено несколько исследований [52, 55, 58, 59]. При внутривенном введении ASC, как и при восстановлении

экспрессии *TET2*, гиперметилирование ДНК удавалось подавить либо снизить благодаря усилению деметилирования ДНК [52, 55, 59]. Интересно, что после добавления ASC клетки лейкоза становятся более чувствительными к ингибированию поли(ADP-рибоза)-полимераз (PARP), что может использоваться как эффективная комбинированная стратегия терапии онкологических заболеваний с мутациями в гене *TET* [52]. Влияние добавления ASC протестировано также на мутантных по IDH1 клетках лейкоза мышей [59]. Показано, что ASC индуцирует TET2-зависимое увеличение количества 5hmC, потерю 5mC и усиление экспрессии генов, что коррелировало с уменьшением самообновления лейкозных стволовых клеток и усилением дифференцировки в сторону зрелого миелоидного фенотипа [59]. Из этих данных можно сделать вывод, что ASC способен, по крайней мере частично, смягчать эффект потери TET и IDH.

Ткани мозга имеют самые высокие потребности во внутриклеточном ASC, так как он участвует в усилении биосинтеза норэпинефрина, выступает в роли кофактора дофамин- $\beta$ -гидроксилазы, а также в качестве ингибитора поглощения глутамата в нейронах сетчатки. ASC в окисленной форме (DHA) способен преодолевать гематоэнцефалический барьер и накапливаться затем в стволовых клетках коры и мозжечка, нейронах и клетках нейробластомы [60, 61]. Считается, что механизм действия ASC при глиоме связан с его прооксидантными свойствами. В клинических исследованиях показано, что сочетание обычных методов лечения с внутривенным введением высоких доз ASC улучшает качество жизни пациентов с глиобластомой, повышает их общую выживаемость и останавливает прогрессирование заболевания [62, 63].

Во многих типах опухолей мутированы гены фумаратгидратазы (FH) и сукцинатдегидрогеназы (SDH) [64, 65]. Мутации в этих генах приводят к накоплению сукцината и фумарата, которые действуют как онкометаболиты, конкурентно ингибируя TET и JmJc-содержащие деметилазы гистонов, даже в присутствии стабильных уровней  $\alpha$ -KG [66]. Действительно, нокдаун *FH* или *SDH* в клетках печени мыши приводил к снижению уровня 5hmC [66]. Влияние ASC на клетки с мутациями в генах *FH* или *SDH* пока не изучено, однако можно предполагать, что усиление ферментативной активности TET или JmJc-содержащих деметилаз может оказаться достаточным для восстановления нормального эпигенетического ландшафта даже в присутствии ингибирующих онкометаболитов.

### **ASC в качестве адъювантной терапии**

Потенциальные взаимодействия между ASC и химиотерапевтическими средствами уже давно явля-

ются предметом споров [67]. В исследованиях на животных показано, что одновременное использование высоких доз ASC и различных химиотерапевтических средств приводило к снижению роста ксенотрансплантированной опухоли [68–70]. Во многих *in vivo* исследованиях показано снижение уровня общей токсичности химиотерапевтических средств при пероральном или внутривенном введении ASC [71]. Введение ASC снижало потерю лейкоцитов, потерю веса и накопление асцитов, а также гепатотоксичность, уровень окисления липидов и кардиомиопатию, вызванную химиотерапевтическими средствами [69, 72].

В клинических испытаниях с участием пациентов с онкозаболеваниями различного типа внутривенное введение больших доз ASC вместе с химиотерапевтическими средствами не имело побочных эффектов и во многих случаях приводило к улучшению состояния здоровья и качества жизни [69, 73, 74]. Часто отмечают, что комбинированная терапия с участием ASC усиливает чувствительность к определенным противоопухолевым препаратам, а значит, потенциально уменьшает необходимую дозировку и, следовательно, побочные эффекты [52, 75]. Снижение токсичности, связанной с химиотерапией, показано, например, у пациентов с раком яичников III–IV стадии, которые получали карбоплатин и паклитаксел в сочетании с высокой дозой ASC [69].

Масштабное деметилирование ДНК, наблюдаемое при добавлении ASC к линиям клеток лейкоза человека, связано с увеличением в них активности TET2 [52, 76]. Ингибиторы ДНК-метилтрансфераз (DNMTi), например, 5-азациитидин и децитабин, снижают aberrантное гиперметилическое ДНК благодаря подавлению активности поддерживающих и *de novo* ДНК-метилтрансфераз [77]. При синергическом действии ASC и DNMTi происходит как пассивное, так и активное деметилическое ДНК, что приводит к ингибированию пролиферации опухолевых клеток и апоптозу [76]. Результаты проведенных на сегодняшний день клинических исследований, в целом, подтверждают эффективность совместного использования ASC и DNMTi [74].

ASC усиливает цитотоксическое действие ингибитора PARP1/2 олапариба на клетки AML (острый миелоидный лейкоз) человека [52]. Возможно, в данном случае речь идет о синтетической летальности: TET-опосредованное окисление ДНК, вызванное ASC, делает клетки AML сверхчувствительными к ингибированию PARP в связи с невозможностью удаления неканонических оснований из ДНК.

ASC также повышает чувствительность клеток меланомы к ингибиторам BET (Bromodomain and Extra-Terminal motif)-содержащих белков (BETi),

которые вызывают изменения уровня ацетилирования гистонов и рассматриваются как многообещающие средства для терапии онкологических заболеваний [75]. ASC усиливает эффективность BETi, уменьшая уровень ацетилирования гистона H4 путем TET-зависимого подавления экспрессии гистон-ацетилтрансферазы 1 (HAT1).

В популяции в среднем дефицит ASC встречается редко, однако он гораздо чаще наблюдается у пациентов с поздними стадиями рака [78]. У большинства пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями выявляется дефицит ASC [76, 79]. Даже при отсутствии мутаций в генах TET дефицит ASC может дополнительно ухудшать функции белков TET при подавлении прогрессии опухоли. Показано, что введение некоторых противоопухолевых препаратов, таких, как цисплатин, фторурацил, нилотиниб и интерлейкин-2, может значительно снизить уровень ASC [80, 81]. Таким образом, дефицит ASC может способствовать усилению агрессивности заболевания и повышать риск рецидива.

## ASC И РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

### ASC и эмбриональное развитие

На ранних стадиях эмбрионального развития млекопитающих происходят два раунда деметилического ДНК, осуществляемого как пассивным, так и активным образом. Сразу после оплодотворения в отцовском хроматине 5mC быстро заменяется на 5hmC путем TET3-опосредованного гидроксильирования, после чего образовавшийся 5hmC размывается при репликации ДНК имплантированных эмбрионов [82]. Это приводит к практически полному исчезновению паттерна 5mC в отцовском хроматине уже на стадии 16 клеток – метилирование сохраняется только в импринтированных геномных локусах [82, 83]. Деметилическое материнского хроматина, хотя и происходит немного позже, также опосредуется как TET3-зависимым окислением, так и пассивным деметилическим [84, 85]. После имплантации эмбриона внутренняя клеточная масса, которая и дает начало зародышу, подвергается метилированию ДНК *de novo* [86]. Второй этап деметилического ДНК, который включает, в том числе, деметилическое импринтированных локусов, происходит в первичных половых клетках [87, 88].

Для удовлетворения потребности клеток в TET требуется значительное количество ASC в качестве кофактора, и при его отсутствии эмбриональное развитие может быть нарушено из-за неполного деметилического ДНК, что может привести к врожденным дефектам развития. ASC необходим для TET-зависимого деметилического многих про-

моторов и активации генов зародышевой линии в эмбриональных стволовых клетках мыши и человека [12, 17]. Деметилирование гистонов, опосредованное JmjC-содержащими гистондеметилазами, имеет решающее значение для эмбрионального развития [89–92]. Показано, что материнское и отцовское питание оказывает влияние на паттерны метилирования ДНК и гистонов в клетках потомства [93, 94]. На мышинной модели показано, что потребление ASC необходимо для правильного деметилирования ДНК и дальнейшего развития женских половых клеток у плода [95]. Дефицит ASC у матери не влияет на общее развитие плода, но приводит к уменьшению количества половых клеток, замедленному мейозу и снижению плодовитости у потомства [95]. Дефицит ASC во время беременности частично имеет те же эффекты, что и нокаут гена *TET1*.

В целом, ASC, поддерживая каталитическую активность TET и некоторых JmjC-содержащих гистондеметилаз, особенно во время эпигенетического репрограммирования, может быть необходим на ранних стадиях эмбрионального развития.

#### **ASC и репрограммирование соматических клеток**

Возможность репрограммировать соматические клетки в ИПСК, которые в дальнейшем могут использоваться для получения различных дифференцированных клеточных популяций, является важным инструментом регенеративной медицины [96, 97]. Индукция транскрипционных факторов Oct4, Sox2, Klf4 и c-Мус (OSKM) приводит к получению ИПСК из дифференцированных соматических клеток [96, 98, 99]. Репрограммирование происходит с низкой эффективностью из-за таких факторов, как возраст донора клеток, количество пассажей в культуре, тканевое происхождение клеток [100–102]. В основе репрограммирования лежат два основных процесса: репрессия генов дифференцировки и активация генов, которые регулируют плюрипотентность. Удаление эпигенетических модификаций в геноме соматических клеток имеет решающее значение для успешности репрограммирования [103]. Многочисленные исследования, проведенные за последнее десятилетие, показали, что добавление ASC в питательную среду культивируемых соматических клеток повышает эффективность репрограммирования, а также качество полученных ИПСК [13, 14, 34]. ASC, усиливая каталитическую активность TET и JmjC-содержащих гистондеметилаз, стимулирует деметилирование ДНК и гистонов в соматических клетках, что одновременно может приводить к активации экспрессии генов плюрипотентности и стиранию эпигенетической памяти дифференцированного состояния взрослых клеток.

В первых исследованиях ASC добавляли в культуральную среду для репрограммирования в качестве антиоксиданта для смягчения эффектов АФК, уровень которых при индуцированной экспрессии OSKM был повышен [104]. Однако ASC более эффективно усиливал пролиферацию ЭСК и генерацию ИПСК из фибробластов мыши и человека, чем другие антиоксиданты [13]. Предполагается, что ASC способствует клеточному репрограммированию благодаря усилению деметилирования гистонов, которое необходимо для экспрессии Nanog – одного из основных транскрипционных факторов [105]. Действительно, добавление ингибиторов ASC-зависимых KGDD приводило к нарушению процесса образования ИПСК из MEF [34].

Одно из препятствий для репрограммирования соматических клеток – метилирование гистона H3K9 [33]. Добавление ASC к клеткам пре-ИПСК, которые находятся в промежуточном состоянии репрограммирования, приводит к их превращению в полностью репрограммированные ИПСК [13]. Такое действие ASC может быть связано с тем, что в его присутствии эффективней происходит деметилирование гистона H3K9, ассоциированного с генами транскрипционных факторов, регулирующих плюрипотентность, что приводит к усилению их экспрессии [33]. При одновременном добавлении ASC и ингибировании H3K9-специфических метилтрансфераз эффективность процесса репрограммирования повышается [13]. Проведение полногеномного скрининга с использованием РНК-интерференции позволило идентифицировать гистондеметилазу Kdm3b (Jhdm2b) как основную мишень, которую активирует ASC в процессе репрограммирования клеток [33]. Показано также, что увеличение активности деметилаз Kdm3a/b (Jmjd1a/b) и Kdm4b/c (Jmjd2b/c) с помощью ASC в ЭСК мыши и в пре-ИПСК приводит к специфической потере H3K9me2/me3 в локусах генов, ответственных за плюрипотентность [30, 33].

Другой JmjC-содержащий фермент из группы Kdm, Kdm6a (Utx), деметилюет H3K27me3 и является важнейшим регулятором индукции плюрипотентности при перепрограммировании соматических клеток мыши и человека [106]. Добавление ASC в среду культивирования ЭСК мыши приводит к изменению распределения H3K27me3 в их геноме, причем это происходит, в основном, локус-специфически [30], причины чего еще предстоит выяснить.

Анализ изменения профилей метилированных H3K36 по ходу репрограммирования MEFs в ИПСК продемонстрировал, что ASC вызывает заметное снижение H3K36me2/3 благодаря увеличению активности гистондеметилаз Kdm2a/2b (Jhdm1a/1b) [34]. Это, в числе прочего, приводит к снижению



уровня экспрессии генов ингибиторов циклинзависимых киназ в локусе INK4/ARF и снимает ограничения с процесса репрограммирования соматических клеток [101, 107]. Известно также, что репрограммирование с использованием экспрессии Oct4 и гистондеметиلاзы KDM2B в присутствии ASC активирует экспрессию кластера микроРНК miR302/367 [34]. KDM2B снижает ASC-зависимым образом уровни метилирования H3K36, который окружает сайты связывания Oct4, находящиеся около гена miR302/367, и способствует их экспрессии [34]. Кластер miR302/367 регулирует плюрипотентность путем ингибирования экспрессии генов, важных для дифференцировки [108]. Так как эти микроРНК играют решающую роль в поддержании плюрипотентности клеток, то их экспрессия падает при дифференцировке [109]. Примечательно, что экспрессия всего кластера miR302/367 достаточна для перепрограммирования фибробластов [110].

Экспрессия генов *TET* играет важную роль в репрограммировании соматических клеток. Нокдаун генов *TET* существенно затрудняет, а в некоторых случаях и полностью предотвращает, репрограммирование MEF в ИПСК путем экспрессии OSKM [20, 111, 112]. Вполне ожидаемо, ASC увеличивает эффективность процесса репрограммирования фибробластов мыши и человека в ИПСК *TET*-зависимым образом [16–19]. Для более эффективного репрограммирования ИПСК мыши в состояние наивной плюрипотентности ASC может быть использована совместно с витамином А (ретиноевая кислота), который через специфические сигнальные пути активирует транскрипцию *TET2* и *TET3* [13, 113, 114].

Наряду с важной ролью в репрограммировании соматических клеток, ASC также необходим для поддержания пролиферации и нормального потенциала дифференцировки ЭСК, ИПСК, нейрональных стволовых клеток и мезенхимальных стволовых клеток [115]. Скорее всего, участие ASC в предотвращении

преждевременного старения этих клеточных культур и сохранении их эпигенетической пластичности опосредуется его ролью в качестве кофактора ферментов деметилирования ДНК и гистонов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Недавние исследования значительно расширили наше понимание механизмов действия ASC, в связи с чем возникло несколько гипотез, обосновывающих возможность его использования в клинической практике. ASC можно рассматривать в качестве эпигенетического лекарства, способного снижать aberrантное гиперметилирование ДНК и гистонов, что может быть востребовано при терапии некоторых видов рака и нейродегенеративных заболеваний. Точное понимание механизмов действия ASC и проводимые сейчас клинические исследования помогут определить, пациенты с какими типами онкологических заболеваний могут извлечь выгоду из лечения высокими дозами ASC. Внутривенное введение ASC может действовать само по себе или в сочетании с различными химиотерапевтическими агентами. Доклинические и клинические исследования показывают, что токсичность и побочные эффекты химиотерапии при этом могут быть снижены без уменьшения опухолеспецифической цитотоксической активности. С другой стороны, клиническая значимость ASC связана с регенеративной медициной, в частности, с получением ИПСК из соматических клеток. Влияние ASC на репрограммирование соматических клеток убедительней всего объясняется комбинированным усилением активности ферментов, участвующих в активном деметилировании ДНК и гистонов. ●

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-00-00098) и Российского научного фонда (грант № 19-74-10009).*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Linster C.L., van Schaftingen E. // *FEBS J.* 2007. V. 274. № 1. P. 1–22.
- Levine M., Conry-Cantilena C., Wang Y., Welch R.W., Washko P.W., Dhariwal K.R., Park J.B., Lazarev A., Graumlich J.F., King J., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 8. P. 3704–3709.
- Burzle M., Hediger M.A. // *Curr. Top. Membr.* 2012. V. 70. P. 357–375.
- Ferrada L., Salazar K., Nualart F. // *J. Cell. Physiol.* 2019. V. 234. № 11. P. 19331–19338.
- Lykkesfeldt J. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007. V. 16. № 11. P. 2513–2516.
- Young J.I., Zuchner S., Wang G. // *Annu. Rev. Nutr.* 2015. V. 35. P. 545–564.
- Gorres K.L., Raines R.T. // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2010. V. 45. № 2. P. 106–124.
- Bhutani N., Burns D.M., Blau H.M. // *Cell.* 2011. V. 146. № 6. P. 866–872.
- Lorsbach R.B., Moore J., Mathew S., Raimondi S.C., Mukatira S.T., Downing J.R. // *Leukemia.* 2003. V. 17. № 3. P. 637–641.
- Rausch C., Hastert F.D., Cardoso M.C. // *J. Mol. Biol.* 2019. V. 432. № 6. P. 1731–1743.
- Kantidze O.L., Razin S.V. // *Cell Cycle.* 2017. V. 16. № 16. P. 1499–1501.
- Chung T.L., Brena R.M., Kolle G., Grimmond S.M., Berman B.P., Laird P.W., Pera M.F., Wolvetang E.J. // *Stem Cells.* 2010. V. 28. № 10. P. 1848–1855.
- Esteban M.A., Wang T., Qin B., Yang J., Qin D., Cai J., Li W., Weng Z., Chen J., Ni S., et al. // *Cell Stem Cell.* 2010. V. 6. № 1. P. 71–79.
- Stadtfeld M., Apostolou E., Ferrari F., Choi J., Walsh R.M., Chen T., Ooi S.S., Kim S.Y., Bestor T.H., Shioda T., et al. // *Nat. Genet.* 2012. V. 44. № 4. P. 398–405.



15. Dickson K.M., Gustafson C.B., Young J.I., Zuchner S., Wang G. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013. V. 439. № 4. P. 522–527.
16. Minor E.A., Court B.L., Young J.I., Wang G. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. № 19. P. 13669–13674.
17. Blaschke K., Ebata K.T., Karimi M.M., Zepeda-Martinez J.A., Goyal P., Mahapatra S., Tam A., Laird D.J., Hirst M., Rao A., et al. // *Nature*. 2013. V. 500. № 7461. P. 222–226.
18. Chen J., Guo L., Zhang L., Wu H., Yang J., Liu H., Wang X., Hu X., Gu T., Zhou Z., et al. // *Nat. Genet.* 2013. V. 45. № 12. P. 1504–1509.
19. Yin R., Mao S.Q., Zhao B., Chong Z., Yang Y., Zhao C., Zhang D., Huang H., Gao J., Li Z., et al. // *J. Am. Chem. Soc.* 2013. V. 135. № 28. P. 10396–10403.
20. Doege C.A., Inoue K., Yamashita T., Rhee D.B., Travis S., Fujita R., Guarneri P., Bhagat G., Vanti W.B., Shih A., et al. // *Nature*. 2012. V. 488. № 7413. P. 652–655.
21. Koh K.P., Yabuuchi A., Rao S., Huang Y., Cunniff K., Nardone J., Laiho A., Tahiliani M., Sommer C.A., Mostoslavsky G., et al. // *Cell Stem Cell*. 2011. V. 8. № 2. P. 200–213.
22. Justin N., De Marco V., Aasland R., Gamblin S.J. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2010. V. 20. № 6. P. 730–738.
23. Metzger E., Wissmann M., Yin N., Muller J.M., Schneider R., Peters A.H., Gunther T., Buettner R., Schule R. // *Nature*. 2005. V. 437. № 7057. P. 436–439.
24. Shi Y., Lan F., Matson C., Mulligan P., Whetstine J.R., Cole P.A., Casero R.A., Shi Y. // *Cell*. 2004. V. 119. № 7. P. 941–953.
25. Klose R.J., Yamane K., Bae Y., Zhang D., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Wong J., Zhang Y. // *Nature*. 2006. V. 442. № 7100. P. 312–316.
26. McDonough M.A., Loenarz C., Chowdhury R., Clifton I.J., Schofield C.J. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2010. V. 20. № 6. P. 659–672.
27. Tsukada Y., Fang J., Erdjument-Bromage H., Warren M.E., Borchers C.H., Tempst P., Zhang Y. // *Nature*. 2006. V. 439. № 7078. P. 811–816.
28. Zhang T., Huang K., Zhu Y., Wang T., Shan Y., Long B., Li Y., Chen Q., Wang P., Zhao S., et al. // *J. Biol. Chem.* 2019. V. 294. № 37. P. 13657–13670.
29. Chen X., Yammine S., Shi C., Tark-Dame M., Gondor A., Ohlsson R. // *Epigenetics*. 2014. V. 9. № 11. P. 1439–1445.
30. Ebata K.T., Mesh K., Liu S., Bilenky M., Fekete A., Acker M.G., Hirst M., Garcia B.A., Ramalho-Santos M. // *Epigenetics Chromatin*. 2017. V. 10. P. 36.
31. Song M.H., Nair V.S., Oh K.I. // *BMB Rep.* 2017. V. 50. № 1. P. 49–54.
32. Tran K.A., Jackson S.A., Olufs Z.P., Zaidan N.Z., Leng N., Kendzioriski C., Roy S., Sridharan R. // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 6188.
33. Chen J., Liu H., Liu J., Qi J., Wei B., Yang J., Liang H., Chen Y., Chen J., Wu Y., et al. // *Nat. Genet.* 2013. V. 45. № 1. P. 34–42.
34. Wang T., Chen K., Zeng X., Yang J., Wu Y., Shi X., Qin B., Zeng L., Esteban M.A., Pan G., et al. // *Cell Stem Cell*. 2011. V. 9. № 6. P. 575–587.
35. Shenoy N., Creagan E., Witzig T., Levine M. // *Cancer Cell*. 2018. V. 34. № 5. P. 700–706.
36. Padayatty S.J., Levine M. // *Oral. Dis.* 2016. V. 22. № 6. P. 463–493.
37. Chen Q., Espey M.G., Krishna M.C., Mitchell J.B., Corpe C.P., Buettner G.R., Shacter E., Levine M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102. № 38. P. 13604–13609.
38. Du J., Cullen J.J., Buettner G.R. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2012. V. 1826. № 2. P. 443–457.
39. Chen Q., Espey M.G., Sun A.Y., Lee J.H., Krishna M.C., Shacter E., Choyke P.L., Pooput C., Kirk K.L., Buettner G.R., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104. № 21. P. 8749–8754.
40. Rawal M., Schroeder S.R., Wagner B.A., Cushing C.M., Welsh J.L., Button A.M., Du J., Sibenaller Z.A., Buettner G.R., Cullen J.J. // *Cancer Res.* 2013. V. 73. № 16. P. 5232–5241.
41. Yun J., Mullarky E., Lu C., Bosch K.N., Kavalier A., Rivera K., Roper J., Chio I., Giannopoulou E.G., Rago C., et al. // *Science*. 2015. V. 350. № 6266. P. 1391–1396.
42. Ngo B., van Riper J.M., Cantley L.C., Yun J. // *Nat. Rev. Cancer*. 2019. V. 19. № 5. P. 271–282.
43. Semenza G.L. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2016. V. 1863. № 3. P. 382–391.
44. Campbell E.J., Vissers M.C., Bozonet S., Dyer A., Robinson B.A., Dachs G.U. // *Cancer Med.* 2015. V. 4. № 2. P. 303–314.
45. Koivunen P., Hirsila M., Gunzler V., Kivirikko K.I., Myllyharju J. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 11. P. 9899–9904.
46. Knowles H.J., Raval R.R., Harris A.L., Ratcliffe P.J. // *Cancer Res.* 2003. V. 63. № 8. P. 1764–1768.
47. Kuiper C., Dachs G.U., Currie M.J., Vissers M.C. // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. V. 69. P. 308–317.
48. Vissers M.C., Gunningham S.P., Morrison M.J., Dachs G.U., Currie M.J. // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. V. 42. № 6. P. 765–772.
49. Kuiper C., Dachs G.U., Munn D., Currie M.J., Robinson B.A., Pearson J.F., Vissers M.C. // *Front. Oncol.* 2014. V. 4. P. 10.
50. Kuiper C., Molenaar I.G., Dachs G.U., Currie M.J., Sykes P.H., Vissers M.C. // *Cancer Res.* 2010. V. 70. № 14. P. 5749–5758.
51. Ehrlich M., Lacey M. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013. V. 754. P. 31–56.
52. Cimmino L., Dolgalev I., Wang Y., Yoshimi A., Martin G.H., Wang J., Ng V., Xia B., Witkowski M.T., Mitchell-Flack M., et al. // *Cell*. 2017. V. 170. № 6. P. 1079–1095.
53. Ko M., An J., Rao A. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2015. V. 37. P. 91–101.
54. Odejide O., Weigert O., Lane A.A., Toscano D., Lunning M.A., Kopp N., Kim S., van Bodegom D., Bolla S., Schatz J.H., et al. // *Blood*. 2014. V. 123. № 9. P. 1293–1296.
55. Shenoy N., Bhagat T., Nieves E., Stenson M., Lawson J., Choudhary G.S., Habermann T., Nowakowski G., Singh R., Wu X., et al. // *Blood Cancer J.* 2017. V. 7. № 7. P. e587.
56. Zhao Z., Chen L., Dawlaty M.M., Pan F., Weeks O., Zhou Y., Cao Z., Shi H., Wang J., Lin L., et al. // *Cell Rep.* 2015. V. 13. № 8. P. 1692–1704.
57. Tommasini-Ghelfi S., Murnan K., Kouri F.M., Mahajan A.S., May J.L., Stegh A.H. // *Sci. Adv.* 2019. V. 5. № 5. P. eaaw4543.
58. Agathocleous M., Meacham C.E., Burgess R.J., Piskounova E., Zhao Z., Crane G.M., Cowin B.L., Bruner E., Murphy M.M., Chen W., et al. // *Nature*. 2017. V. 549. № 7673. P. 476–481.
59. Mingay M., Chaturvedi A., Bilenky M., Cao Q., Jackson L., Hui T., Moksa M., Heravi-Moussavi A., Humphries R.K., Heuser M., et al. // *Leukemia*. 2018. V. 32. № 1. P. 11–20.
60. Agus D.B., Gambhir S.S., Pardridge W.M., Spielholz C., Baselga J., Vera J.C., Golde D.W. // *J. Clin. Invest.* 1997. V. 100. № 11. P. 2842–2848.
61. Caprile T., Salazar K., Astuya A., Cisternas P., Silva-Alvarez C., Montecinos H., Millan C., de Los Angeles Garcia M., Nualart F. // *J. Neurochem.* 2009. V. 108. № 3. P. 563–577.
62. Baillie N., Carr A.C., Peng S. // *Antioxidants (Basel)*. 2018. V. 7. № 9. P. 115.
63. Schoenfeld J.D., Sibenaller Z.A., Mapuskar K.A., Wagner B.A., Cramer-Morales K.L., Furqan M., Sandhu S., Carlisle T.L., Smith M.C., Abu Hejleh T., et al. // *Cancer Cell*. 2017. V. 31. № 4. P. 487–500.
64. Castro-Vega L.J., Buffet A., De Cubas A.A., Cascon A., Menara M., Khalifa E., Amar L., Azriel S., Bourdeau I., Chabre O., et al. // *Hum. Mol. Genet.* 2014. V. 23. № 9. P. 2440–2446.

65. Oermann E.K., Wu J., Guan K.L., Xiong Y. // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2012. V. 23. № 4. P. 370–380.
66. Xiao M., Yang H., Xu W., Ma S., Lin H., Zhu H., Liu L., Liu Y., Yang C., Xu Y., et al. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. № 12. P. 1326–1338.
67. Lawenda B.D., Kelly K.M., Ladas E.J., Sagar S.M., Vickers A., Blumberg J.B. // *J. Natl Cancer Inst.* 2008. V. 100. № 11. P. 773–783.
68. Espey M.G., Chen P., Chalmers B., Drisko J., Sun A.Y., Levine M., Chen Q. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 50. № 11. P. 1610–1619.
69. Ma Y., Chapman J., Levine M., Polireddy K., Drisko J., Chen Q. // *Sci. Transl. Med.* 2014. V. 6. № 222. P. 222ra218.
70. Xia J., Xu H., Zhang X., Allamargot C., Coleman K.L., Nessler R., Frech I., Tricot G., Zhan F. // *EBioMedicine.* 2017. V. 18. P. 41–49.
71. Carr A.C., Cook J. // *Front. Physiol.* 2018. V. 9. P. 1182.
72. Chen M.F., Yang C.M., Su C.M., Hu M.L. // *Nutr. Cancer.* 2014. V. 66. № 7. P. 1085–1091.
73. Polireddy K., Dong R., Reed G., Yu J., Chen P., Williamson S., Violeto P.C., Pessetto Z., Godwin A.K., Fan F., et al. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 17188.
74. Zhao H., Zhu H., Huang J., Zhu Y., Hong M., Zhu H., Zhang J., Li S., Yang L., Lian Y., et al. // *Leuk. Res.* 2018. V. 66. P. 1–7.
75. Mustafi S., Camarena V., Volmar C.H., Huff T.C., Sant D.W., Brothers S.P., Liu Z.J., Wahlestedt C., Wang G. // *Cancer Res.* 2018. V. 78. № 2. P. 572–583.
76. Liu M., Ohtani H., Zhou W., Orskov A.D., Charlet J., Zhang Y.W., Shen H., Baylin S.B., Liang G., Gronbaek K., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. V. 113. № 37. P. 10238–10244.
77. Hackanson B., Robbel C., Wijermans P., Lubbert M. // *Ann. Hematol.* 2005. V. 84. № Suppl 1. P. 32–38.
78. Mayland C.R., Bennett M.I., Allan K. // *Palliat. Med.* 2005. V. 19. № 1. P. 17–20.
79. Huijskens M.J., Wodzig W.K., Walczak M., Germeraad W.T., Bos G.M. // *Results Immunol.* 2016. V. 6. P. 8–10.
80. Marcus S.L., Petrylak D.P., Dutcher J.P., Paietta E., Ciobanu N., Strauman J., Wiernik P.H., Hutner S.H., Frank O., Baker H. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. V. 54. № 6. P. 1292S–1297S.
81. Weijl N.I., Hopman G.D., Wipkink-Bakker A., Lentjes E.G., Berger H.M., Cleton F.J., Osanto S. // *Ann. Oncol.* 1998. V. 9. № 12. P. 1331–1337.
82. Inoue A., Zhang Y. // *Science.* 2011. V. 334. № 6053. P. 194.
83. Mayer W., Niveleau A., Walter J., Fundele R., Haaf T. // *Nature.* 2000. V. 403. № 6769. P. 501–502.
84. Peat J.R., Dean W., Clark S.J., Krueger F., Smallwood S.A., Ficiz G., Kim J.K., Marioni J.C., Hore T.A., Reik W. // *Cell Rep.* 2014. V. 9. № 6. P. 1990–2000.
85. Wang L., Zhang J., Duan J., Gao X., Zhu W., Lu X., Yang L., Zhang J., Li G., Ci W., et al. // *Cell.* 2014. V. 157. № 4. P. 979–991.
86. Borgel J., Guibert S., Li Y., Chiba H., Schubeler D., Sasaki H., Forne T., Weber M. // *Nat. Genet.* 2010. V. 42. № 12. P. 1093–1100.
87. Hackett J.A., Sengupta R., Zylicz J.J., Murakami K., Lee C., Down T.A., Surani M.A. // *Science.* 2013. V. 339. № 6118. P. 448–452.
88. Hajkova P., Jeffries S.J., Lee C., Miller N., Jackson S.P., Surani M.A. // *Science.* 2010. V. 329. № 5987. P. 78–82.
89. Casanueva E., Ripoll C., Tolentino M., Morales R.M., Pfeffer F., Vilchis P., Vadillo-Ortega F. // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. V. 81. № 4. P. 859–863.
90. Kamikawa Y.F., Donohoe M.E. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 5. P. e0125626.
91. Li Q., Wang H.Y., Chepelev I., Zhu Q., Wei G., Zhao K., Wang R.F. // *PLoS Genet.* 2014. V. 10. № 7. P. e1004524.
92. Welstead G.G., Creighton M.P., Bilodeau S., Cheng A.W., Markoulaki S., Young R.A., Jaenisch R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. № 32. P. 13004–13009.
93. Dominguez-Salas P., Moore S.E., Baker M.S., Bergen A.W., Cox S.E., Dyer R.A., Fulford A.J., Guan Y., Laritsky E., Silver M.J., et al. // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 3746.
94. Lambrot R., Xu C., Saint-Phar S., Chountalos G., Cohen T., Paquet M., Suderman M., Hallett M., Kimmins S. // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. P. 2889.
95. DiTroia S.P., Percharde M., Guerquin M.J., Wall E., Collignon E., Ebata K.T., Mesh K., Mahesula S., Agathocleous M., Laird D.J., et al. // *Nature.* 2019. V. 573. № 7773. P. 271–275.
96. Takahashi K., Yamanaka S. // *Cell.* 2006. V. 126. № 4. P. 663–676.
97. Zhao X.Y., Li W., Lv Z., Liu L., Tong M., Hai T., Hao J., Guo C.L., Ma Q.W., Wang L., et al. // *Nature.* 2009. V. 461. № 7260. P. 86–90.
98. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S. // *Cell.* 2007. V. 131. № 5. P. 861–872.
99. Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J.L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G.A., Ruotti V., Stewart R., et al. // *Science.* 2007. V. 318. № 5858. P. 1917–1920.
100. Eminli S., Foudi A., Stadtfeld M., Maherali N., Ahfeldt T., Mostoslavsky G., Hock H., Hochedlinger K. // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 9. P. 968–976.
101. Li H., Collado M., Villasante A., Strati K., Ortega S., Canamero M., Blasco M.A., Serrano M. // *Nature.* 2009. V. 460. № 7259. P. 1136–1139.
102. Marion R.M., Strati K., Li H., Murga M., Blanco R., Ortega S., Fernandez-Capetillo O., Serrano M., Blasco M.A. // *Nature.* 2009. V. 460. № 7259. P. 1149–1153.
103. Mikkelsen T.S., Hanna J., Zhang X., Ku M., Wernig M., Schorderet P., Bernstein B.E., Jaenisch R., Lander E.S., Meissner A. // *Nature.* 2008. V. 454. № 7200. P. 49–55.
104. Banito A., Rashid S.T., Acosta J.C., Li S., Pereira C.F., Geti I., Pinho S., Silva J.C., Azuara V., Walsh M., et al. // *Genes Dev.* 2009. V. 23. № 18. P. 2134–2139.
105. Cloos P.A., Christensen J., Agger K., Helin K. // *Genes Dev.* 2008. V. 22. № 9. P. 1115–1140.
106. Mansour A.A., Gafni O., Weinberger L., Zviran A., Ayyash M., Rais Y., Krupalnik V., Zerbib M., Amann-Zalcenstein D., Maza I., et al. // *Nature.* 2012. V. 488. № 7411. P. 409–413.
107. Tzatsos A., Pfau R., Kampranis S.C., Tschlis P.N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 8. P. 2641–2646.
108. Houbaviy H.B., Murray M.F., Sharp P.A. // *Dev. Cell.* 2003. V. 5. № 2. P. 351–358.
109. Suh M.R., Lee Y., Kim J.Y., Kim S.K., Moon S.H., Lee J.Y., Cha K.Y., Chung H.M., Yoon H.S., Moon S.Y., et al. // *Dev. Biol.* 2004. V. 270. № 2. P. 488–498.
110. Anokye-Danso F., Trivedi C.M., Juhr D., Gupta M., Cui Z., Tian Y., Zhang Y., Yang W., Gruber P.J., Epstein J.A., et al. // *Cell Stem Cell.* 2011. V. 8. № 4. P. 376–388.
111. Costa Y., Ding J., Theunissen T.W., Faiola F., Hore T.A., Shliha P.V., Fidalgo M., Saunders A., Lawrence M., Dietmann S., et al. // *Nature.* 2013. V. 495. № 7441. P. 370–374.
112. Hu X., Zhang L., Mao S.Q., Li Z., Chen J., Zhang R.R., Wu H.P., Gao J., Guo F., Liu W., et al. // *Cell Stem Cell.* 2014. V. 14. № 4. P. 512–522.
113. Hore T.A., von Meyenn F., Ravichandran M., Bachman M., Ficiz G., Oxley D., Santos F., Balasubramanian S., Jurkowski T.P., Reik W. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. V. 113. № 43. P. 12202–12207.
114. Schwarz B.A., Bar-Nur O., Silva J.C., Hochedlinger K. // *Curr. Biol.* 2014. V. 24. № 3. P. 347–350.
115. Lee Chong T., Ahearn E.L., Cimmino L. // *Front. Cell Dev. Biol.* 2019. V. 7. P. 128.