

УДК 612

НЕЙРОПРОТЕОМИКА, ИЛИ КАК МНОЖЕСТВА БЕЛКОВ ОТРАЖАЮТ ФУНКЦИИ МОЗГА

© 2020 г. О. А. Гомазков*

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

**e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru*

Поступила в редакцию 23.04.2020 г.

После доработки 23.04.2020 г.

Принята к публикации 23.04.2020 г.

В обзоре освещаются опубликованные в последние годы сообщения о достижениях в области количественной нейропротеомики, которые основаны на использовании новых методов анализа работы мозга. Функциональная нейропротеомика позволяет по-новому понять механизмы работы и функции мозга, а также процессы, связанные с нейродегенеративными заболеваниями, за счет выявления экспрессированных белков и их взаимодействий. Анализ протеома головного мозга позволил установить ключевые белки, лежащие в основе синаптической дисфункции при болезни Альцгеймера, и обосновать механизмы, имеющие значение для прогностических и диагностических биомаркеров заболевания.

Ключевые слова: протеом, нейропротеомика, синапс, болезнь Альцгеймера, цереброспинальная жидкость, биомаркеры

DOI: 10.31857/S0042132420040079

ВВЕДЕНИЕ

Протеомика — биологическая дисциплина, которая благодаря принципиально обновленной технологии исследует совокупности белков биологических систем в структурно-функциональной взаимосвязи. Задача протеомики заключается в анализе белков органа, ткани, компартментов клетки, биологических жидкостей и др. Сущность протеомики — в определении количественного и физико-химического содержания белков как главных компонентов биологической системы, а также при нарушениях нормального физиологического состояния или в условиях патологии.

Применение протеомики к изучению функциональных аспектов мозга ставит ряд специфических проблем, поскольку необходимо учитывать большое количество типов нейрональных клеток, которые демонстрируют различные паттерны экспрессии генов и белков. Достижения в технологии анализа протеомов обеспечили новые возможности изучения экспрессии, взаимодействия и функций белков в нервной системе. На основании применения комплексных методов анализа протеомов и селективного выделения нужных тканей получены данные о белках зон мозга, синапсов и цереброспинальной жидкости. Особое внимание в исследованиях уделено синаптическим белкам как участникам осуществления ней-

ротрансмиттерной функции мозга. Исследование белков нейропротеома дает новые возможности выявления биомаркеров для терапии нейродегенеративных, травматических и психических заболеваний мозга.

ПРОТЕОМИКА КАК ПРОДОЛЖЕНИЕ ИДЕОЛОГИИ ГЕНОМА

Протеомика — область молекулярной биологии, ставящая своей целью идентификацию и количественный анализ огромного числа белков в организме. Объектом изучения служат белки, которые экспрессируются в клетке, в ткани, в спинномозговой и других жидкостях биологических систем. Основная задача протеомики заключается в идентификации новых белков и в их анализе. Протеомика рассматривается (Blackstock, Weir, 1999) как количественное и физическое картирование набора клеточных белков.

Протеомика является продолжением идеологии генома, предоставляя информацию о генных молекулярных продуктах и функциональном значении белков и полипептидов. Традиционный акцент в понимании гена как конечной инстанции требует структурного и функционального продолжения с учетом многообразия и вариабельности протекающих биологических процессов. На пороге XXI в. был поставлен вопрос: “Каким образом ин-

формационная структура – ген – связана с реально работающей молекулярной машиной – белком?... А так как белки, по сути дела, осуществляют все известные биологические функции, то, следовательно, информационные знания не могут быть прямо переведены в знание реально работающих белковых молекул... И ответ на этот вопрос, казалось бы, предельно прост: нужно провести инвентаризацию существующих белков в клетке” (Арчаков, 2000, с. 336).

Термин “протеомика” впервые был использован в 1994 г. как продолжение “белкового эквивалента генома” (Wasinger et al., 1995; Wilkins, 2009). Появилась, таким образом, возможность составления карты “протеомного полотна”, которая отражает динамику биохимических процессов в рамках конкретных временных и пространственных условий (Lamond et al., 2012). Благодаря методическому потенциалу анализа появляется возможность осмысления кооперативного множества белков. Речь идет о новой стратегии биолого-медицинского знания, которая предлагает уникальный подход для клеточной биологии и молекулярной медицины (Hedl et al., 2019).

Основным методом протеомного исследования, позволяющим осуществлять массированный анализ белков, служит масс-спектрометрия (МС), дополняемая все более совершенными инструментами. Современный подход предоставляет возможность оценки различных аспектов протеома: а) определение относительного или абсолютного содержания белков в выбранной пробе с помощью количественной МС; б) установление всех элементов первичной структуры белков, включая посттрансляционные модификации; в) картирование белок–белковых взаимодействий с последующим исследованием на основе биоинформатики.

Дополнительное использование методов биоинформатики значительно расширяет содержание протеомных исследований. База данных UniProt (<http://www.uniprot.org/>) предоставляет большой объем информации о структуре и биологических функциях белков, которые известны в результате реализации проектов секвенирования геномов.

Согласно прилагаемой программе, UniProtKB/Swiss-Prot включает сведения о большом перечне структурных, генетических, функциональных и др. особенностей конкретных белков. База биоинформатики STRING (<http://string-db.org/>) включает данные о более чем пяти тысячах исследованных белков. Эта база представляет информацию о белковых взаимодействиях, дополненную вычислительными прогнозами.

Возможности исследования генома человека значительно повлияли на содержание биомедицинских работ. Усилиями большого коллектива

авторов была составлена рабочая карта протеома человека с непосредственными измерениями белков и пептидов. Стратегия протеоеномного анализа позволила обнаружить ряд новых кодирующих белок областей генома. Этот каталог суммирует обширную информацию о геноме человека и о транскриптом (Kim et al., 2014).

Инновационные методы, применяемые в исследовании протеомов, становятся все более совершенными в отношении изучения клеточных функций. Появление в последнее десятилетие усовершенствованной технологии МС с высокими скоростями сканирования и разрешением позволило массово анализировать сложные протеомы, получаемые из разнообразных источников. Структурные изменения белков, обусловленные физико-химическими законами, приводят к конформационным перестройкам и образованию олигомеров высшего порядка. Они являются значимыми регуляторными и исполнительными компонентами физиологических и патологических процессов в организме.

Фенотипические особенности клеток, непосредственно связанные с выполнением функций, определяются количеством (множествами) и качественным составом белков. В последнее двадцатилетие становится значимой так называемая функциональная протеомика, служащая выявлению протеомных комплексов, их взаимосвязей, регуляторных и метаболических цепей, сопряженных с изменениями функций органа или физиологической системы.

Интерес к проблеме протеома может быть проиллюстрирован изменениями количества статей в рейтинговых журналах базы данных PubMed (табл. 1). В контексте нашей статьи следует отметить растущий интерес к новой области – нейропротеомике. Значительная доля исследований протеомов мозга посвящена общим вопросам, связанным с физиологией и нейродегенеративными заболеваниями. Обращает внимание, что, начиная с первых статей, интерес в проблеме ориентирован на практические значимые задачи – возможности установления мишеней патологии. Около одной десятой от общего числа статей составляют обзорные публикации. Вероятно, их следует рассматривать как попытки упорядочения исследований в различных аспектах нейропротеомики.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙРОПРОТЕОМИКИ КАК НОВОГО НАПРАВЛЕНИЯ БИОМЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Изменение концентрации и состава белков имеет большое значение для определения статуса биологической системы, признаков нарушения физиологического состояния или в условиях па-

тологии. Применение протеомики к задачам функционального исследования мозга ставит ряд специфических проблем с необходимостью учитывать большое количество типов нейрональных клеток, которые демонстрируют различные паттерны экспрессии генов и белков. Традиционная нейробиология мозга, которая в течение многих десятилетий исповедовала принцип последовательного анализа отдельных молекулярных продуктов (нейромедиаторы, нейропептиды, нейротрофические и ростовые факторы, аминокислоты и др.), получила на основе количественной нейропротеомики новые мотивации в методическом и функциональном аспектах.

Следует заметить, что мысль о физиологической роли белков была изложена около семидесяти лет назад в книге Х.С. Коштоянца “Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция”. Известным советским ученым была сформулирована тогда концепция, согласно которой выполнение основных стадий синаптического процесса осуществляется специализированными функциональными белками. Благодаря структурной дифференцировке и наличию в молекуле разных функциональных групп, белковые тела обладают реактивностью особого порядка (Коштоянц, 1951). Эта была основанная на простых экспериментах попытка, скорее, замечательная догадка о роли белков, условно именуемых функциональными, в регуляции специализированных физиологических процессов.

Новые технологии протеомного анализа делают возможной идентификацию пептидов и белков и их постгеномных модификаций в рамках количественных изменений. Сравнительный анализ белков – в определенных регионах мозга и клеточных компартментах, при изменениях функциональных состояний, включая этапы патогенеза, для идентификации ключевых белков как мишеней возможного терапевтического воздействия – представляет новый уровень изучения головного мозга в целом (Craft et al., 2013).

Сложно описать многообразие белковых молекул, представляющих предмет нейропротеомики. Протеомы синапсов, клеточных ядер, цитозоля, включающего структуры митохондрий, везикул, мембран... Белки и аминокислоты сетевых пространств нейроастроцитарных доменов, организующих транзиттерную функцию, и многие белки, которые обслуживают эти процессы. Нейропротеомика, благодаря обработке больших молекулярных массивов, предоставляет новые возможности исследования мозга во всей сложности функций. Нейропротеомика характеризует пространственную организацию белков в нервной системе, демонстрируя механизмы белок–белковых взаимодействий и образования рабочих сетей.

Таблица 1. Число статей, по данным PubMed, по запросам PROTEOMICS = etc

Proteomics = GENERAL	129455 (*)
Proteomics Mass-Spectrometry	49181
Proteomics Biomarkers	22244
Proteomics Quantitative	19664
BIOLOGY = DISEASES	
Cell Proteomics	70728
Single Cell Proteomics	5497
Proteomics Diseases	37048
Proteomics Cancer	278851
Brain Proteomics = General	8104
Brain Diseases Proteomics	5220
Neurodegenerative Diseases. Proteomics	2224
Proteomics Review	21861

Примечание: данные приведены на февраль 2020 г. Первичные публикации по всем позициям относятся к 1990-м гг. с относительно равномерным возрастанием. (*) – для общей позиции Proteomics = GENERAL: с 1992 г. – единичные публикации; 2006 г. – более 5 тыс.; 2018–19 гг. – более 10 тыс. статей в год.

Протеом мозга позвоночных включает несколько тысяч белков, исследованных у рыб, мышей, крыс, человека. Исследования позволили заключить, что, например, молекулы синаптического протеома не являются функционально избранными и выполняют свои функции также в комплексах других молекулярных машин. Очевидно, геном и транскриптом, кодируя отдельные белки, инструктируют их организацию, формируя суперкомплексы, или нанокластеры, объединенные в функциональные протеомные сети (Frank, Grant, 2017).

Следует отметить, что нейропротеомика позволяет концентрировать интерес на новых целевых конструкциях. Например, для синапса в качестве входных ворот нейрона было установлено множество новых белковых сайтов, обозначаемых как синаптический фосфопротеом (synapse phosphoproteome) (Collins et al., 2005). Была также получена информация о группах металлосвязывающих и окислительно-модифицированных белков, ассоциируемых с патогенезом нейродегенеративных заболеваний (Sultana et al., 2006).

Нейропротеомика позволила увеличить масштаб клинических работ в изучении мозга человека. В начале XXI в. был запущен ряд организационных инициатив в исследованиях мозга. Как отмечается в исходной декларации, проект “Протеом мозга человека” (NBPP, Human Brain Proteome Project) ориентирован на задачи протеомного профилирования тканей мозга и спинномозговой жидкости, расстройств нейродегенеративного, аутоиммунного и психического профиля, травм и

онкопатологии мозга. Проекты, посвященные экспрессии генов: Атлас нервной системы для экспрессии генов (GENSAT, <http://www.gensat.org>) и Атлас мозга Аллена (<http://www.brainatlas.org>) — также предоставили обширную информацию, которая дополняет нейропротеомные исследования.

Методология нейропротеомики включает методические подходы, учитывающие особенности клеточной архитектуры головного мозга и отдельных клеток, демонстрирующих большое разнообразие лабильных процессов в условиях физиологической нормы и при патологии. Современные технологии МС позволяют проводить высокоточные количественные определения целых массивов или небольших белковых компартментов с использованием лазерной микродиссекции нейронов (Wilson, Nairn, 2018). Для анализа протеомов субклеточных структур используются методы маркировки нуклеарных и митохондриальных белков. Этот подход оказался применим к срезам мозга и единичным нейронам, а также клеткам культивируемых клеточных линий (Zhu et al., 2019).

Разрабатываются новые формы изучения протеомов на субклеточном уровне. Интерес представляют исследования экспрессии белков, специфичных для определенного типа синапсов (Chick et al., 2015). Прием лазерной микродиссекции позволил идентифицировать белки, получаемые непосредственно из гетерогенных срезов тканей мозга. Из этого материала путем локальной обработки ультрафиолетом и фиксации инфракрасным лазером отбирались группы клеток или даже одиночные нейроны (Curgan et al., 2000). При микродиссекции инфарктной зоны мозга были выявлены изменения матричных металлопротеиназ MMP-9 и TIMP-2 в церебральных микрососудах и увеличенное содержание MMP-10 в пенумбре (Cuadrado et al., 2009). Этот подход был также использован для определения комплексов белков в нейрофибриллярных клубках нейронов гиппокампа при болезни Альцгеймера (БА) (Wang et al., 2005) и при деменции с тельцами Леви (ДТЛ) (Leverenz et al., 2007). Таким образом, комплексная методология протеомных исследований позволила установить значение конкретных белков при нейродегенеративных, травматических и нервно-психических расстройствах (Craft et al., 2013; Xiong et al., 2017; Natividad et al., 2018; Zhang et al., 2018; He et al., 2019).

На основании анализа (Bayes, Grant, 2009), можно суммировать ряд выводов, характеризующих значимость современной протеомики для изучения мозга.

- Количественные методы МС открыли возможности для сравнительного приложения количественной протеомики во многих областях нейробиологии — в исследовании процессов развития, синаптической пластичности, трансформации

стволовых клеток и заболеваний головного мозга различной этиологии.

- Нейропротеомика предоставляет данные о молекулярной организации мозга на разных уровнях его функционирования от белковых комплексов нейротрансмиттерной инженерии до когнитивного потенциала мозга в целом.

- Нейропротеомика характеризует пространственную организацию белков в нервной системе — в структуре нейрона, синапса, белковых взаимодействий при образовании функциональных нейронных сетей. Становится возможным понимание посттрансляционных модификаций, постгеномной трансформации и образования белков и других молекул необходимого функционального назначения, составляющих объемную картину организации и работы мозга.

- Оперативный скрининг массива белков, осуществляемый усложненными методами, позволяет выявлять молекулярные звенья для диагностики и лечения заболеваний мозга. Клиническая нейропротеомика может представить новые возможности конкретизации сущности заболевания — его предвестников, динамики, локализации и степени выраженности.

ПРОТЕОМЫ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СИНАПСОВ

По современным понятиям, головной мозг обеспечивает информационное управление всех систем организма. Синапсы служат входными воротами обработки и передачи информации в сети нейронов. С позиций количественной протеомики следует констатировать, что оперирование усредненными данными оказывается сложной задачей, поскольку в мозге млекопитающих идентифицировано порядка 200–250 млрд нервных клеток, объединяемых множеством 10^{12} – 10^{14} синапсов. Избирательное определение белков в структурах мозга и в отдельных нейронных компартментах в их огромном разнообразии представляет особую методическую проблему.

Нейротрансмиттерная регуляторная функция обеспечивается участием различных белков, организованных в надмолекулярные комплексы. К их функциям относят: активацию лиганд-управляемых ионных каналов и экспрессии рецепторов, включение молекулярных транспортеров, щелевых синаптических посредников и др. Налицо сложная, лабильная и высокоспецифичная машина физиологического назначения, которая функционирует как система организованных в белковые кластеры протеомов.

Синапс как функциональная единица нейрона включает множество синаптических пузырьков, пресинаптическую зону контакта везикул с мембраной и основные белки постсинаптического уплотнения PSD (postsynaptic density). При ана-

лизе протеомного профиля PSD выявлено более полутора тысяч белков, различного функционального назначения. В этом перечне: актиновые белки цитоскелета и микротрубочек, транспортеры ионных каналов, регуляторы ГТФ-азы, белки Ca^{2+} -сигналинга, митохондрий, рибосомальной трансляции и др. (Guan et al., 2011). Протеомные исследования выявили количественный состав белков PSD в синапсах различных областей мозга при разных физиологических условиях. Для количественного сравнения мембранных белков в коре мозга, гиппокампе и мозжечке, ионных каналах, рецепторах был использован метод изотопной метки; выявлено более 550 белков, экспрессия которых двадцатикратно различалась в регионах мозга (Olsen et al., 2007).

Была впервые получена масштабная картина молекулярной организации синаптических везикул с высоким содержанием функциональных белков (Takamori et al., 2006). Сравнительные исследования везикулярных мембран позволили получить данные о белковом профиле различных синапсов. Протеомный анализ был проведен для отдельных синаптических пузырьков, получаемых из синапсомом мозга (Coughenour et al., 2004; Morciano et al., 2005). Были отмечены основные классы синаптических белков, компоненты пре- и постсинаптических комплексов, а также сигнальные белки. Анализы пептидных матриц показали, что небольшое количество киназ фосфорилирует множество белков и что каждый субстрат используется многими киназами. Эти данные дополняют сведения о фосфорилировании синаптических белков как сигнальной сети нейрона (Collins et al., 2005). При изучении отдельных сайтов выявляются более активные фосфорилированные формы белка в рецепторах NMDA, что согласуется с центральной ролью этих рецепторов при обработке транзитных сигналов в гиппокампе (Trinidad et al., 2008).

Для исследования протеома был применен многомерный анализ одиночных синапсов. Этот подход, в отличие от проточной цитометрии, позволил определять более тридцати параметров в выборке десятков тысяч отдельных синапсов. Новая методология дала возможность установить региональные изменения протеомов синаптических фенотипов, специфичность которых была подтверждена изменениями в дофаминергических нейронах при ДТЛ и БА (Gajera et al., 2019).

НЕЙРОПРОТЕОМ. ДИСФУНКЦИЯ СИНАПСОВ И ДЕМЕНЦИЯ

Деменции – распространенные нарушения головного мозга, связанные с возрастом и/или нейродегенеративными заболеваниями различной этиологии. К их числу относят клинические формы поражения мозга при БА, болезни Пар-

кинсона, лобно-височной деменции, амиотрофического бокового склероза, ДТЛ и др. Особое место в списке заболеваний занимает сосудистая деменция, которая рассматривается как следствие нарушений церебральной гемодинамики, инфекций, аутоиммунных влияний. Нарушения синапсов и их потеря (прунинг) оказываются ведущими признаками многих нейродегенеративных заболеваний и, как следствие, основным коррелятом когнитивного расстройства (DeKosky, Scheff, 1990; Terry et al., 1991; Scheff et al., 2007).

В этом контексте потеря синаптических белков и дисфункция синапсов, по-видимому, являются ведущей причиной проявления деменции на ранних ее стадиях (Masliah et al., 2001). Анализ отдельных групп белков показывает, что синаптическая дисфункция связана с отложением в нейронах токсичных α -синуклеиновых олигомеров, что влияет на изменения концентрации других синаптических молекул и ведет к потере нейронов (Rockenstein et al., 2014). Изменения синаптического белка нейрогранина могут служить чувствительным маркером возрастных когнитивных нарушений Альцгеймеровского типа (Casalotto et al., 2017). Снижение активности белков-транспортеров нейротрансмиттера глутамата предшествует потере нейронов и служит, таким образом, предтечей когнитивных расстройств (Kirvell et al., 2006).

В протеомном анализе аутопсийного материала пациентов с БА или с ДТЛ (Bereczki et al., 2016) было установлено, что белки синаптических везикул VAMP2, Syntaxin-1, SNAP, Munc18 и др., постсинаптические и рецепторные белки NRG1, PSD95, LRFN2 и рецепторные белки GRIA3 оказываются причастными к различным формам нейродегенеративной патологии. Из общей группы 1035 белков клинического материала 851 относится к синаптическим структурам. Содержание этих белков значительно изменено у пациентов с БА, с болезнью Паркинсона и с ДТЛ. Многофакторный анализ показал, что панели синаптических белков обнаруживают четкое разделение между группами пациентов и соответствующим контролем. Были отмечены изменения синаптических белков LRFN2, SNAP47, SV2C, SYBU, SYT2, специфичных для исследованных заболеваний. Когнитивные нарушения и скорость развития деменции коррелировали с потерей белков SNAP47, SYBU, LRFN2, SV2C и GRIA3. Таким образом, протеомная оценка синаптических белков позволила внести дифференцирующие критерии заболеваний и выделить молекулярные мишени патогенеза.

Суммируя приведенные результаты, можно выстроить определенную последовательность событий, связанных с нарушением нейротрансмит-

терной функции, с изменениями в структуре синаптического протеома и развитием нейродегенеративных процессов.

- Дисфункция синапсов как основных звеньев нейротрансмиссии ведет к нарушению механизма передачи информации и, как следствие, к развитию нейродегенеративной патологии: нарушениям памяти, когнитивных процессов и других проявлений деменции.

- При этом отмечено выпадение функции отдельных белков или целых кластеров, связанных с работой синапсов, что ведет к перестройкам белок-белковых отношений и нарушениям целостности нейронного гомеостаза.

- Анализ протеомов у пациентов с БА, с болезнью Паркинсона, с ДТЛ, с травмами мозга и др. демонстрирует разновариантные изменения синаптических кластеров в соответствии с динамикой и региональными особенностями патогенеза.

- В целом, данные синаптической протеомики у этой категории больных могут служить основанием для определения маркеров диагностики и мишеней терапевтического влияния.

ПРОТЕОМ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНАЯ ПАТОЛОГИЯ. БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Новые подходы с использованием протеомного анализа нацелены на получение информации об этиологии нейродегенеративных заболеваний и на определение роли конкретных белков в системе дисфункций.

Представлены данные (Li et al., 2019) протеомных исследований на материалах БА, болезни Паркинсона, ДТЛ, амиотрофического склероза и др. Эти сведения существенно дополняют информацию о клеточных изменениях при нейродегенеративных заболеваниях, а также выявляют новые конкретные белки, связанные с варибельной картиной патологии.

Протеомный анализ различных форм БА позволил определить несколько сотен типов белков, соответствующих патологии. При исследовании гиппокампа зарегистрированы качественные и количественные изменения пула белков, относящиеся ко всем стадиям патогенеза БА (Hondius et al., 2016). В коре мозга были идентифицированы белки, вовлеченные в патогенез общей и бессимптомной форм БА (Johnson et al., 2018). В пирамидальных клетках гиппокампа около 90 единиц, выделенных из общей когорты, демонстрировали значительные отличия на ранней фазе заболевания. Было также установлено, что белки внеклеточного матрикса TNC, VCAN, LAMB2 и LGALS1 и молекулы адгезии CD44, ITGB1 и ITGAV, взаимодействующие с ними, показали особо высокую экспрессию (Seyfried et al., 2017). Масштабный протеомный анализ мозга человека определил белки,

ассоциируемые с когнитивной траекторией пожилых пациентов с БА (Wingo et al., 2019). Митохондриальная дисфункция является ключевой характеристикой как при нормальном старении, так и при нейродегенеративных заболеваниях. Количественный протеомный подход с использованием изобарической метки iTRAQ (isobaric tagging for relative and absolute quantitation) выявил изменения митохондрий, которые отличали фенотип БА от изменений, связанных с нормальным старением (Adav et al., 2019).

На материале пациентов со спорадической формой БА представлен системный анализ протеомных модулей с учетом общих характеристик нейродегенеративного процесса. В соответствии с данными интегративной протеомики в клетках коры мозга были выделены модули, которые коррелировали с клиническими и патофизиологическими признаками заболевания: наличием амилоидных бляшек и/или нейрофибриллярных клубочков. Установлены также белки с повышенной (SNCA) или с пониженной ($A\beta$, GSN и GFAP) экспрессией, которые имели отношение к нейротрансмиссии. Высказано предположение, что нарушение рилизинга синаптических пузырьков может играть роль в образовании бляшек и способствовать прогрессированию заболевания (Zhang et al., 2018).

Отдельное внимание уделено анализу протеома на доклинической стадии БА. Описаны изменения в белковых сетях, в которых из общей группы мембраносвязанных белков (27 протеомных модулей) около половины демонстрировали корреляцию с клиническими фенотипами. Белки внеклеточного матрикса CSPG, ACAN и PTN обнаруживали количественное увеличение, тогда как белки синаптогенеза SYNPO1, VGF, CAMKK2, CAMK4 демонстрировали заметное снижение. Эти результаты позволили выделить предклинические (асимптомные) изменения протеомов, которые могут рассматриваться как диагностические признаки (Higginbotham et al., 2019).

Результаты рассмотрения протеомных сигнатур неокортекса и других зон коры мозга свидетельствовали о существенных различиях в уязвимости структур мозга при БА. При учете региональной специфичности протеома в целом было установлено, что изменения в экспрессии отдельных белков указывают на потерю синапсов, выраженную во всех анализируемых областях. Нарушение регуляции трансляции было преобладающим в энторинальном, парагиппокампальном и лобном кортикальных слоях мозга (Mendonça et al., 2019).

В табл. 2 представлены структурные, молекулярные и функциональные изменения при БА. Согласно данным протеомного анализа, выделены процессы, в которых установлено снижение

Таблица 2. Структурные, молекулярные и функциональные изменения в материалах пациентов с БА (по: Zhang et al., 2018, с модификациями)

Отрицательная корреляция с БА (увеличение уровня белков)	Положительная корреляция с БА (снижение уровня белков)
Клеточная адгезия Экзоцитоз Ответы на оксидативный стресс Везикулярный транспорт Регуляция транскрипционного гена Регуляция апоптоза Секреторные гранулы Внутриклеточные везикулы Цитоскелет коры мозга Эндоплазматический ретикулум Трансмембранное пространство митохондрий Оксидоредуктазная активность Антиоксидантная активность Связывание липидов	Белковый транспорт Межклеточные взаимодействия Митохондрии – синтез АТФ/транспорт электронов Структура цитоскелета Изменение синаптической передачи Миелиновая оболочка Синапсы нейронов Клеточный контакт Соматодендритные структуры Митохондрии Эндосомы

Примечание: данные отражают выявленные при протеомном анализе изменения функциональных характеристик, типичные для БА: снижение уровня белков, участвующих в основных метаболических процессах в мозге и, напротив, повышенная активность деструктивных клеточных факторов; нарушение структурной организации нейронов и процессов клеточного взаимодействия; изменения, свидетельствующие о потере синаптической функции (дисфункция белков, участвующих в трафике синаптических пузырьков, трансмембранном и везикулярном транспорте) и о нарушении передачи сигнала. В целом, эти клеточные и системные функциональные нарушения нейротрансмиттерной функции указывают на расстройство сетевой организации в мозге.

или возрастание экспрессии белков при положительной или, напротив, отрицательной корреляции с БА. Деструктивные процессы, сопряженные с изменениями ведущих белков, служат причиной заболевания. Эти исследования дополнили общую картину организации белковых сетей в мозге и конкретизировали нарушения множества процессов и путей регуляции в динамике нейродегенеративной патологии.

БЕЛКИ КРОВИ И СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ. ВОЗМОЖНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Спинномозговая жидкость (СМЖ) – физиолого-биохимическая система мозга, включающая набор белков, которые обеспечивают стабилизирующую (гомеостатическую), защитную, нейротрансмиттерную, иммунную и др. функции. Принято считать, что общая концентрация белка в СМЖ, варьирующая в зависимости от функционального состояния организма, влияет на скорость тока в системе ликвора. Большая часть белков секретируется через гематоэнцефалический барьер из крови, и около 20% – высвобождаются из самого мозга за счет нейронов и глиальных клеток (Reiber, 2003; Spector et al., 2015). С позиций функциональной протеомики СМЖ может расцениваться как самый удобный материал для прижизненных диагностических исследований.

Первые протеомные исследования СМЖ в клинике (Hu et al., 2005) дали толчок к развитию усложненных технологий. Количественная МС была нацелена на выявление индивидуальных вариаций протеомного материала СМЖ (Perrin et al., 2013; Hedl et al., 2019; Lachén-Montes et al., 2019).

Исследования СМЖ установили около 2000 экспрессированных белков в списке пятидесяти заболеваний (Núñez Galindo et al., 2019). Несколько десятков таких белков обнаружены при БА. У пациентов с рассеянным склерозом и бактериальным менингитом в материале СМЖ были обнаружены специализированные белки, профиль которых имеет отношение к процессам воспаления (Bastos et al., 2017).

С помощью электронной микроскопии и МС высокого разрешения был создан каталог 1315 белков, выделенных из везикул СМЖ, который включал 230 впервые идентифицированных молекул (Chiasserini et al., 2014). В дальнейшем протеомный анализ с помощью метода, используемого для секвенирования длинных участков ДНК, позволил установить 3.5 тыс. единиц протеома. Среди белков этого пула 34% соответствуют генам, транскрипты которых экспрессируются в мозге и соответствуют Атласу белков мозга человека. Существенно, что в материале СМЖ были также обнаружены основные биомаркеры

БА: τ -белок, амилоид- β , аполиipoprotein E, нейрогранин (Macron et al., 2018).

В СМЖ пациентов с умеренными когнитивными нарушениями исследованы синаптические протеомы, участвующие в везикулярном транспорте. Среди значимых белков хромогранин А, секретогранин II, нейрексин-3 и нейропентаксин 1 показали наибольшие изменения, относящиеся к бессимптомной стадии БА (Duits et al., 2018). В начальный период нейродегенеративного процесса выявлено более 250 белков, часть из которых тестируется в качестве синаптических маркеров заболевания. Для белков: калсинтенин-1, рецептор Glu4, нейрексины-2А и -3А, синтаксин-1В и τ -1 – констатируется сниженный уровень на доклинической стадии БА (Lleó et al., 2019).

Таким образом, сведения о протеоме СМЖ человека служат полезным ориентиром для определения ключевых биохимических звеньев патогенеза и определения вероятных биомаркеров. Тем не менее, определенная сложность в изучении СМЖ зависит от большой разнородности состава белков в клиническом материале: индивидуальная компонента пациента, возраст, характер заболевания, его динамика и др. С позиций идеальных биомаркеров, выбранные белки должны иметь низкую межиндивидуальную вариабельность (субъектную дисперсию), сравнимую с контрольными образцами (Schilde et al., 2018).

Попытки исследования протеомов в сыворотке крови при патологии мозга встречают определенные затруднения в дифференцированном анализе. Кровь – гетерогенная ткань организма, включающая, с точки зрения нейропротеомики, большой шумовой фон. В то же время наглядная доступность материала для исследования подкрепляется очевидными плюсами интегративного анализа. Во-первых: возможность использования нескольких временных точек за счет серийных проб крови. Во-вторых, возможность в этих условиях проанализировать динамические изменения групп белков, отражающие различные функциональные особенности. В-третьих, возможность сопоставления изменений протеомных кластеров с получаемыми одновременно характеристиками функциональных сдвигов в организме и поведенческих изменений (Agoston, Elsayed, 2012).

При исследовании белков сыворотки крови пациентов с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) выявлены молекулы различного уровня экспрессии. В подробном перечне обнаруживались структурные белки мембран, белки нейротрансмиссии, сигнальной трансдукции, межклеточной интеграции и др. Более конкретное рассмотрение выявляемых молекул позволяет определить профили экспрессии, относящиеся к категории провоспалительных, ростовых и нейротрофических

факторов, отражающих уровень компенсаторных процессов (He et al., 2019).

В группе пациентов с последствиями ЧМТ протеомный анализ был приурочен к установлению когнитивной дисфункции. При исследовании сыворотки крови был использован метод iTRAQ в качестве изобарической метки дифференциально экспрессированных белков. Интегративный протеомный анализ показал, что когнитивный дефицит как следствие ЧМТ включал большой спектр клеточных, метаболических и сигнальных процессов. В эту молекулярную механику было вовлечено более пятидесяти разнообразно экспрессированных белков, участвующих в процессах нейродегенерации, апоптоза, воспаления, транспортировки регуляторных молекул, свертывания крови и др. (Xiong et al., 2017).

Таким образом, современная технология исследования протеомов дает возможность выявления большого спектра причастных к патологии молекул. Это изобилие представляет для аналитика-нейрохимика так же, как и для клинициста, в большей мере стохастическую картину белков и различной степени их экспрессии. Важным подспорьем в этом анализе служит возрастающий арсенал методических приемов, включая использование материалов биоинформатики. Конечная цель и смысл нейропротеомики в этом контексте – выявление молекулярных и функциональных звеньев патогенеза и определение ключевых биомаркеров – остается основной тенденцией возрастающего практического интереса к проблеме.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ БИОМАРКЕРОВ

Биомаркеры, выявляемые прижизненно в СМЖ или на аутопсийном материале, имеют большое значение для клинических целей, включая диагностику, прогнозирование и мониторинг терапии (Ibanez et al., 2015; Verstraeten et al., 2015; Klein et al., 2016). В исследованиях последнего периода был установлен ряд биомаркеров, характерных для патогенеза нейродегенеративных заболеваний, ишемии и травмы мозга. Значимыми представляются сведения о синаптических белках, играющих ключевую роль в контроле патологических процессов (Carrillo et al., 2015; Moya-Alvarado et al., 2016; Bereczki et al., 2018).

Исследования предыдущего периода, включавшие энзимохимический анализ, томографию и разнообразные клинические тесты, определили линейку биомаркеров, специфических для определенных типов заболеваний мозга. Технология поиска на этом этапе следовала от диагностируемого клинически нарушения функций к выявлению ключевых молекул патологии, которые могли бы служить мишенями терапевтического воз-

действия. Нынешняя технология строится на пространстве информации о когортах белков и пептидов, об их сумме, о специфических изменениях в исследуемом материале. Важно, что эти различия в структуре протеома и соответствующие им белки-биомаркеры могут отражать патологию до появления клинических симптомов. Кроме того, определенные группы белков позволяют дифференцировать формы заболевания или стадии патогенеза (Jack et al., 2010; Wateman et al., 2012).

С точки зрения определения протеомных белков как биомаркеров, рассматриваются новые молекулы, которые могут характеризовать клиническую форму заболевания, его стадийность, индивидуальность пациента и др. Выше были приведены примеры выявления новых белков, соответствующих продромальной (бессимптомной) стадии БА, а также установления в определенных зонах коры мозга биомаркеров уязвимости пациента к заболеванию. В качестве примера можно привести комплексное многоцентровое исследование (Westwood et al., 2020), в котором при анализе протеомов СМЖ несколько классических амилоидных белков свидетельствовали о вероятных фенотипах БА. Сравнительная панель биомаркеров СМЖ позволяет дифференцировать симптоматику высокой или низкой амилоидной патологии. На этой основе возможно диагностическое выделение предваряющей болезнь бессимптомной фазы (Dubois et al., 2016).

Следует, однако, заметить, что, несмотря на явный оптимизм в представлении кандидатов в новые маркеры, возникают оговорки относительно неоднородности клинического материала, как аутопсийных, так и прижизненных исследований, вследствие чего результаты плохо оцениваются статистически (Shevchenko et al., 2015). Одной из проблем поиска клинически полезных биомаркеров считается необходимость стандартизации биобанкинга и валидации материалов исследования. Очевидно, это направление нуждается в разработке стандартизированных подходов и в расширении информации о влиянии сопутствующих анализу факторов (Teunissen et al., 2009; Del Campo et al., 2012; Otto et al., 2012). Разработка протеомных исследований, дополняемая контрольными энзимо-, иммунохимическими и другими тестами, и существенное прогностическое значение результатов утверждают перспективность этих работ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следует резюмировать, что среди выдающихся инструментов природы белок оказывается наиболее распространенной и значимой субстанцией жизни. На всех этажах биологической организации, по всем осям измерений — от полноты рас-

пространения в биосфере до хитроумных функциональных конструкций в живых системах — следует подтвердить тезиса, что жизнь есть форма существования белковых тел.

Новые технологии изучения протеома, рассматриваемого как сумму всех белков живых систем, позволяют исследовать эти множества в конкретной форме. Современные представления о методических аспектах и функциональной значимости протеомики в наибольшей полноте могут быть оценены на примере головного мозга — органа высшей сложности в структурном и функциональном отношениях.

Если исходить из положения, что информационная функция мозга как высшего органа управления есть главное его назначение, то белки протеома служат материальной основой исполнения. Постгеномный, посттрансляционный протеомный арсенал находит здесь свое применение во всей полноте возможной вариабельности, в огромном объеме компонентов регуляции, а также в большом перечне заболеваний мозга.

Ключевой для биологии принцип “Что? Где? Когда?” (Гомазков, 1999) оказывается основным для понимания функциональной протеомики.

Что? — структура конкретного белка и его физико-химические параметры, которые определяют свойства молекулы и функциональные характеристики.

Где? — компартиментализация белков, приуроченная к определенной локализации: клеточной, субклеточной, мембранной, везикулярной, ядерной, митохондриальной и др.

Когда? — временные координаты и функциональная характеристика протеома или кластера белков.

Сопряжение всех факторов триады является, по-видимому, необходимым условием.

Анализируя роль протеома в работе головного мозга, нельзя не заметить тонкую организацию белковых нанокластеров в структуре нейронных синапсов. Основной представляется связка синапс—протеом—деменция в контексте организующей миссии синаптических белков как посредников нейротрансмиттерной функции. Этот тезис оказывается ведущим в рассмотрении нейрохимических механизмов заболеваний мозга. С методической позиции синапс — сложное протеомное сооружение. При селективном исследовании белковых кластеров анализируется тканевой материал целых синапсов (или их групп) с помощью лазерной и ультрафиолетовой хирургии. Изменению отдельных групп белков тканей мозга при нейродегенеративной патологии и других нарушениях (черепно-мозговая травма, ишемический инсульт, фармакологическая зависимость, психические расстройства и

др.) посвящено немало исследований последнего двадцатилетия.

Полученные сведения о протеоме головного мозга помогают раскрыть пространственные, регуляторные и временные аспекты работы нейронных систем. Исследования нейропротеома привели к распознаванию белков, которые помогут выяснить пути, ведущие к патологии. На основании этих результатов открывается перспектива выявления новых биомаркеров, полезных для стратегии лечения нейродегенеративных и других заболеваний мозга.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследований.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Автор выражает признательность проф. Н.А. Крупниной и проф. В.Г. Згоде за ценные замечания и поддержку этой статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арчаков А.И. Что за геномикой? Протеомика // *Вопр. мед. химии*. 2000. Т. 46 (4). С. 335–343.
- Гомазков О.А. Нейропептиды – универсальные регуляторы. Почему? // *Природа*. 1999. № 3. С. 3–13.
- Коштова Х.С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция // М.: АН СССР, 1951. 100 с.
- Adav S.S., Park J.E., Sze S.K. Quantitative profiling brain proteomes revealed mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease // *Mol. Brain*. 2019. V. 12 (1). P. 8.
- Agoston D.V., Elsayed M. Serum-based protein biomarkers in blast-induced traumatic brain injury spectrum disorder // *Front. Neurol*. 2012. V. 3. P. 107.
- Bastos P., Ferreira R., Manadas B. et al. Insights into the human brain proteome: disclosing the biological meaning of protein in networks cerebrospinal fluid // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci*. 2017. V. 54 (3). P. 185–204.
- Bateman R.J., Xiong C., Benzing T.L. et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease // *New Eng. J. Med*. 2012. V. 367. P. 795–804.
- Bayes A., Grant S.G. Neuroproteomics: understanding the molecular organization and complexity of the brain // *Nat. Rev. Neurosci*. 2009. V. 10 (9). P. 635–646.
- Berezcki E., Francis P.T., Howlett D. et al. Synaptic proteins predict cognitive decline in Alzheimer's disease and Lewy body dementia // *Alzh. Dement*. 2016. V. 12. P. 1149–1158.
- Berezcki E., Branca R.M., Francis P.T. et al. Synaptic markers of cognitive decline in neurodegenerative diseases: a proteomic approach // *Brain*. 2018. V. 141 (2). P. 582–595.
- Blackstock W.P., Weir M.P. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins // *Tr. Biotechnol*. 1999. V. 17. P. 121–127.
- Carrillo M.C., Dean R.A., Devous M.D.Sr. et al. Revolutionizing Alzheimer's disease and clinical trials through biomarkers // *Alzh. Dement*. 2015. V. 1. P. 412–419.
- Casaleto K.B., Elahi F.M., Bettcher B.M. et al. Neurogranin, a synaptic protein, is associated with memory independent of Alzheimer biomarkers // *Neurology*. 2017. V. 89 (17). P. 1782–1788.
- Chiasserini D., van Weering J.R.T., Piersma S.R. et al. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid extracellular vesicles: a comprehensive dataset // *J. Proteomics*. 2014. V. 106. P. 191–204.
- Chick J.M., Kolippakkam D., Nusinow D.P. et al. A mass-tolerant database search identifies a large proportion of unassigned spectra in shotgun proteomics as modified peptides // *Nat. Biotechnol*. 2015. V. 33. P. 743–749.
- Collins M.O., Yu L., Coba M.P. et al. Proteomic analysis of *in vivo* phosphorylated synaptic proteins // *J. Biol. Chem*. 2005. V. 280. P. 5972–5982.
- Coughenour H.D., Spaulding R.S., Thompson C.M. The synaptic vesicle proteome: a comparative study in membrane protein identification // *Proteomics*. 2004. V. 4. P. 3141–3155.
- Craft G.E., Chen A., Nairn A.C. Recent advances in quantitative neuroproteomics // *Methods*. 2013. V. 61 (3). P. 186–218.
- Cuadrado E., Rosell A., Penalba A. et al. Vascular MMP-9/TIMP-2 and neuronal MMP-10 up-regulation in human brain after stroke: a combined laser microdissection and protein array study // *J. Proteome Res*. 2009. V. 8 (6). P. 3191–3197.
- Curran S., McKay J.A., McLeod H.L., Murray G.I. Laser capture microscopy // *Mol. Pathol*. 2000. V. 53. P. 64–68.
- DeKosky S.T., Scheff S.W. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity // *Ann. Neurol*. 1990. V. 27. P. 457–464.
- Del Campo M., Mollenhauer B., Bertolotto A. et al. Recommendations to standardize preanalytical confounding factors in Alzheimer's and Parkinson's disease cerebrospinal fluid biomarkers: an update // *Biomark. Med*. 2012. V. 6. P. 419–430.
- Dubois B., Hampel H., Feldman H.H. et al. Preclinical Alzheimer's disease: definition, natural history, and diagnostic criteria // *Alzh. Dement*. 2016. V. 12. P. 292–323.
- Duits F.H., Brinkmalm G., Teunissen C.E. et al. Synaptic proteins in CSF as potential novel biomarkers for prognosis in prodromal Alzheimer's disease // *Alzh. Res. Ther*. 2018. V. 10 (1). P. 5.
- Frank R.A., Grant S.G. Supramolecular organization of NMDA receptors and the postsynaptic density // *Curr. Opin. Neurobiol*. 2017. V. 45. P. 139–147.

- Gajera C.R., Fernandez R., Postupna N. et al. Mass synaptometry: high-dimensional multi parametric assay for single synapses // *J. Neurosci. Meth.* 2019. V. 312. P. 73–83.
- Guan J.S., Su S.C., Gao J. et al. Cdk5 is required for memory function and hippocampal plasticity via the cAMP signaling pathway // *PLoS One.* 2011. V. 6 (9). P. e25735.
- He X.Y., Dan Q.Q., Wang F. et al. Protein network analysis of the serum and their functional implication in patients subjected to traumatic brain injury // *Front Neurosci.* 2019. V. 12. P. 1049.
- Hedl T.J., San Gil R., Cheng F. et al. Proteomics approaches for biomarker and drug target discovery in ALS and FTD // *Front Neurosci.* 2019. V. 13. P. 548.
- Higginbotham L., Dammer E.B., Duong D.M. et al. Network analysis of a membrane-enriched brain proteome across stages of Alzheimer's disease // *Proteomes.* 2019. V. 7 (3). P. e30.
- Hondius D.C., van Nierop P., Li K.W. et al. Profiling the human hippocampal proteome at all pathologic stages of Alzheimer's disease // *Alzh. Dement.* 2016. V. 12. P. 654–668.
- Hu Y., Malone J.P., Fagan A.M. et al. Comparative proteomic analysis of intra- and interindividual variation in human cerebrospinal fluid // *Mol. Cell. Proteomics.* 2005. V. 4 (12). P. 2000–2009.
- Ibanez C., Cifuentes A., Simo C. Recent advances and applications of metabolomics to investigate neurodegenerative diseases // *Int. Rev. Neurobiol.* 2015. V. 122. P. 95–132.
- Jack C.R., Knopman D.S., Jagust W.J. et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade // *Lancet Neurol.* 2010. V. 9. P. 119–128.
- Johnson E.C.B., Dammer E.B., Duong D.M. et al. Deep proteomic network analysis of Alzheimer's disease brain reveals alterations in RNA binding proteins and RNA splicing associated with disease // *Mol. Neurodegener.* 2018. V. 13 (1). P. 52.
- Kim M.S., Pinto S.M., Getnet D. et al. A draft map of the human proteome // *Nature.* 2014. V. 509 (7502). P. 575–581.
- Kirvell S.L., Esiri M., Francis P.T. Down-regulation of vesicular glutamate transporters precedes cell loss and pathology in Alzheimer's disease // *J. Neurochem.* 2006. V. 98. P. 939–950.
- Klein H.U., Bennett D.A., De Jager P.L. The epigenome in Alzheimer's disease: current state and approaches for a new path to gene discovery and understanding disease mechanism // *Acta Neuropathol.* 2016. V. 132. P. 503–514.
- Lachén-Montes M., González-Morales A., Fernández-Irigoyen J., Santamaría E. Determination of cerebrospinal fluid proteome variations by isobaric labeling coupled with strong cation-exchange chromatography and tandem mass spectrometry // *Meth. Mol. Biol.* 2019. V. 2044. P. 155–168.
- Lamond A.I., Uhlen M., Horning S. et al. Advancing cell biology through proteomics in space and time // *Mol. Cell. Proteomics.* 2012. V. 11 (3). P. O112.017731.
- Leverenz J.B., Umar I., Wang Q. et al. Proteomic identification of novel proteins in cortical lewy bodies // *Brain Pathol.* 2007. V. 17 (2). P. 139–145.
- Li K.W., Ganz A.B., Smit A.B. Proteomics of neurodegenerative diseases: analysis of human post-mortem brain // *J. Neurochem.* 2019. V. 151 (4). P. 435–445.
- Lleó A., Núñez-Llaves R., Alcolea D. et al. Changes in synaptic proteins precede neurodegeneration markers in preclinical Alzheimer's disease cerebrospinal fluid // *Mol. Cell. Proteomics.* 2019. V. 18 (3). P. 546–560.
- Macron C., Lane L., Núñez Galindo A., Dayon L. Deep dive on the proteome of human cerebrospinal fluid: a valuable data resource for biomarker discovery and missing protein identification // *J. Proteome Res.* 2018. V. 17 (12). P. 4113–4126.
- Masliah E., Mallory M., Alford M. et al. Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease // *Neurology.* 2001. V. 56. P. 127–129.
- Mendonça C.F., Kuras M., Nogueira F.C.S. et al. Proteomic signatures of brain regions affected by tau pathology in early and late stages of Alzheimer's disease // *Neurobiol. Dis.* 2019. V. 130. P. e104509.
- Morciano M., Burre J., Corvey C. et al. Immunoprecipitation of two synaptic vesicle pools from synaptosomes: a proteomics analysis // *J. Neurochem.* 2005. V. 95. P. 1732–1745.
- Moya-Alvarado G., Gershoni-Emek N., Perlson E., Bronfman F.C. Neurodegeneration and Alzheimer's disease. What can proteomics tell us about the Alzheimer's brain? // *Mol. Cell. Proteomics.* 2016. V. 15. P. 409–425.
- Natividad L.A., Buczynski M.W., McClatchy D.B., Yates J.R. From synapse to function: a perspective on the role of neuroproteomics in elucidating mechanisms of drug addiction // *Proteomes.* 2018. V. 6 (4). P. e50.
- Núñez Galindo A., Macron C., Cominetti O., Dayon L. Analyzing cerebrospinal fluid proteomes to characterize central nervous system disorders: a highly automated mass spectrometry-based pipeline for biomarker discovery // *Meth. Mol. Biol.* 2019. V. 1959. P. 89–112.
- Olsen J.V., Nielsen P.A., Andersen J.R. et al. Quantitative proteomic profiling of membrane proteins from the mouse brain cortex, hippocampus, and cerebellum using the HysTag reagent: mapping of neurotransmitter receptors and ion channels // *Brain Res.* 2007. V. 1134 (1). P. 95–106.
- Otto M., Bowser R., Turner M. et al. Roadmap and standard operating procedures for biobanking and discovery of neurochemical markers in ALS // *Amyotroph. Later. Scler.* 2012. V. 13. P. 1–10.
- Perrin R.J., Payton J.E., Malone J.P. et al. Quantitative label-free proteomics for discovery of biomarkers in cerebrospinal fluid: assessment of technical and inter-individual variation // *PLoS One.* 2013. V. 8 (5). P. e64314.
- Reiber H. Proteins in cerebrospinal fluid and blood: barriers, CSF flow rate and source-related dynamics // *Restor. Neurol. Neurosci.* 2003. V. 21 (3–4). P. 79–96.
- Rockenstein E., Nuber S., Overk C.R. et al. Accumulation of oligomer-prone α -synuclein exacerbates synaptic and neuronal degeneration *in vivo* // *Brain.* 2014. V. 137. Pt 5. P. 1496–1513.
- Scheff S.W., Price D.A., Schmitt F.A. et al. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment // *Neurology.* 2007. V. 68. P. 1501–1508.

- Schilde L.M., Kösters S., Steinbach S. et al.* Protein variability in cerebrospinal fluid and its possible implications for neurological protein biomarker research // *PLoS One*. 2018. V. 13 (11). P. e0206478.
- Seyfried N.T., Dammer E.B., Swarup V. et al.* A multi-network approach identifies protein-specific co-expression in asymptomatic and symptomatic Alzheimer's disease // *Cell Syst*. 2017. V. 4 (1). P. 60–72.
- Shevchenko G., Konzer A., Musunuri S., Bergquist J.* Neuroproteomics tools in clinical practice // *J. Biochim. Biophys. Acta*. 2015. V. 1854 (7). P. 705–717.
- Spector R., Snodgrass R.S., Johanson C.E.* A balanced view of the cerebrospinal fluid composition and functions: focus on adult humans // *Exp. Neurol*. 2015. V. 273. P. 57–68.
- Sultana R., Perluigi M., Butterfield D.A.* Protein oxidation and lipid peroxidation in brain of subjects with Alzheimer's disease: insights into mechanism of neurodegeneration from redox proteomics // *Antioxid. Redox Signal*. 2006. V. 8. P. 2021–2037.
- Takamori S., Holt M., Stenius K. et al.* Molecular anatomy of a trafficking organelle // *Cell*. 2006. V. 127. P. 831–846.
- Terry R.D., Masliah E., Salmon D.P. et al.* Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment // *Ann. Neurol*. 1991. V. 30. P. 572–580.
- Teunissen C.E., Petzold A., Bennett J.L. et al.* A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking // *Neurology*. 2009. V. 73. P. 1914–1922.
- Trinidad J.C., Thalhammer A., Specht C.G. et al.* Quantitative analysis of synaptic phosphorylation and protein expression // *Mol. Cell. Proteomics*. 2008. V. 7 (4). P. 684–696.
- Verstraeten A., Theuns J., van Broeckhoven C.* Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era // *Tr. Genet*. 2015. V. 31. P. 140–149.
- Wang Q., Woltjer R.L., Cimino P.J. et al.* Proteomic analysis of neurofibrillary tangles in Alzheimer disease identifies GAPDH as a detergent-insoluble paired helical filament tau binding protein // *FASEB J*. 2005. V. 19 (7). P. 869–871.
- Wasinger V.C., Cordwell S.J., Cerpa-Poljak A. et al.* Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium* // *Electrophoresis*. 1995. V. 7. P. 1090–1094.
- Westwood S., Baird A.L., Anand S.N. et al.* Validation of plasma proteomic biomarkers relating to brain amyloid burden in the EMIF-Alzheimer's disease multimodal biomarker discovery cohort // *J. Alzh. Dis*. 2020. V. 74. P. 213–225.
- Wilkins M.* Proteomics data mining // *Exp. Rev. Proteomics*. 2009. V. 6 (6). P. 599–603.
- Wilson R.S., Nairn A.C.* Cell-type-specific proteomics: a neuroscience perspective // *Proteomes*. 2018. V. 6 (4). P. e51.
- Wingo A.P., Dammer E.B., Breen M.S. et al.* Large-scale proteomic analysis of human brain identifies proteins associated with cognitive trajectory in advanced age // *Nat. Commun*. 2019. V. 10 (1). P. 1619.
- Xiong X.G., Liang Q., Zhang C. et al.* Serum proteome alterations in patients with cognitive impairment after traumatic brain injury revealed by iTRAQ-based quantitative proteomics // *Biomed. Res. Int*. 2017. V. 2017. Art. 8572509.
- Zhang Q., Ma C., Gearing M., Wang P.G.* Integrated proteomics and network analysis identifies protein hubs and network alterations in Alzheimer's disease // *Acta Neuropathol. Commun*. 2018. V. 6 (1). Art. 19.
- Zhu H., Tamura T., Hamachi I.* Chemical proteomics for subcellular proteome analysis // *Curr. Opin. Chem. Biol*. 2019. V. 48. P. 1–7.

Neuroproteomics or How Dozens of Proteins Reflect Brain Functions

O. A. Gomazkov*

Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

**e-mail: oleg-gomazkov@yandex.ru*

The review highlights advances in quantitative neuroproteomics published in recent years that use new methods for analyzing brain functions. Functional neuroproteomics serves a new understanding of the mechanisms of brain function and neurodegenerative diseases by identifying expressed proteins and their interactions. Analysis of the brain's proteome allowed to establish the key proteins that underlie synaptic dysfunction in Alzheimer's disease and substantiate the mechanisms that are important for prognostic and diagnostic biomarkers of the disease.

Keywords: proteome, quantitative neuroproteomics, synapse, Alzheimer's disease, cerebrospinal fluid, biomarkers