

УДК 577.29+577.24

ВКЛАД ПРОТЕОМИКИ И МЕТАБОЛОМИКИ В ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА К УСЛОВИЯМ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ

© 2022 г. И. М. Ларина^а, Л. Х. Пастушкова^а, Д. Н. Каширина^а*, М. Г. Тюжин^а

^аФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, 123007 Россия

*e-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

Поступила в редакцию 29.03.2022 г.

После доработки 01.04.2022 г.

Принята к публикации 02.04.2022 г.

Бурное развитие ОМИК-технологий привело к появлению новых инструментов для исследования физиологии человека — протеомики, метаболомики. Выявление, одновременно, огромного числа биологически активных молекул — белков, липидов, метаболитов, дает информацию о составе биологических жидкостей, динамике ее изменения, молекулярных взаимодействиях и механизмах ответа на различные воздействия, что позволяет расширить наши представления о функционировании систем организма и делать выводы, имеющие, в том числе, и предсказательную силу. При этом отдельные обнаруживаемые в крови молекулы могут служить маркерами различных заболеваний и преморбидных состояний. Однако, успешное применение биомаркеров в клинике обеспечивается успехом изучения динамики состава и уровня биомолекул в здоровом организме, а также их изменений в зависимости от диеты, физической нагрузки, возраста человека, влияния факторов среды и других параметров, определяющих макроскопическое окружение организма. Обзор посвящен анализу исследований еще одного важного аспекта, варибельности уровня белков, липидов и метаболитов как во времени, так и меж-индивидуальной. Сложность сопоставлению результатов ОМИК-исследований добавляет аналитическая варибельность. В обзоре раскрываются вопросы возраст-зависимых изменений состава биологических молекул и метаболитов, влияния двигательной активности и характера диеты на протеом, а также варибельности биологического состава жидкостей тела здорового человека. Построение цепей взаимодействий является важным применением и часто целью соответствующих ОМИКсных исследований, что определяет дизайн конкретных исследований. В будущем это послужит обоснованием разработки перспективных средств и методов терапевтических вмешательств и управления медицинскими рисками, связанными со старением человека, заболеваниями, сопряженными с возрастом, снижением двигательной активности и метаболическими нарушениями.

Ключевые слова: протеомика, метаболомика, липидомика, плазма, возраст, диета, физическая активность, варибельность

DOI: 10.31857/S0301179822030079

ВВЕДЕНИЕ

Расшифровка генома человека привела к бурному развитию ОМИК-технологий в последние две декады. Для наук о жизни, в том числе физиологии человека, это означало новые возможности — не только методические, но концептуальные. Протеомика и метаболомика на основе хромато-масс-спектрометрии дают возможность исследователю не только с высокой точностью и специфичностью определять состав молекул конкретных классов, идентифицируемых в биологических образцах, но — и это основное их преимущество — в одной и той же пробе, одновременно, получить информацию о сотнях и тысячах биологически важных компонентов. Последнее дает

возможность и основание непосредственного сравнения их концентраций, ее динамики, взаимозависимости параметров.

Плазма крови представляет собой сложную по составу биологическую жидкость, содержащую белки, углеводы, липиды, гормоны, электролиты, растворенные газы. Это связано с тем, что кровь контактирует со всем органами и клетками организма. Поэтому информация об изменениях состава молекул в крови может служить отправной точкой для построения выводов о физиологических процессах, приводящих к соответствующим изменениям состава.

Физиология человека, с позиций системной биологии, используя возможности ОМИК-мето-

дов, может поставить новые вопросы, которые на предшествующем этапе развития решались медленнее, трудоемко и давали частные результаты. К таким важным для физиологии человека вопросам, на наш взгляд, относятся, возраст-зависимые изменения протеома и метаболома, вариабельность биологического состава основных жидкостей тела человека, влияние двигательной активности и характера диеты на протеом.

ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОМА

Старение населения в мире стало проблемой общественного здравоохранения с важным социально-экономическим аспектом. Сохранение физической и когнитивной функций является основным направлением геронтологических исследований, но важно признать, что для достижения этой цели требуется глубокое понимание молекулярных, клеточных и физиологических механизмов, которые, в конечном счете, определяют функциональные изменения. Именно протеомные исследования помогают “проложить путь” для терапевтических вмешательств и управления медицинскими рисками, связанными с возрастом.

Исследование стабильности молекулярных профилей биологических жидкостей здоровых людей с течением времени является важной задачей медицины. Мульти-омиксный анализ Tebani A., выполненный на биоматериале 100 здоровых добровольцев (в возрасте от 50 до 65 лет) методами протеомики, транскриптомики, липидомики, метаболомики, с исследованием аутоантител, профиля иммунных клеток, а также кишечной микробиоты и параметров клинической химии, показал высокую межиндивидуальную вариабельность в различных группах молекулярных показателей. В то же время авторы отметили низкую внутрииндивидуальную (“продольную” во времени) вариабельность. Авторы работы полагают, что каждый обследованный доброволец из их когорты имел уникальный и стабильный профиль белков плазмы на протяжении всего периода исследования, на основе достаточно прочной связи между данными ОМИК технологий и рутинными параметрами клинической химии. Тем не менее, авторы подтверждают, что комплексное омиксное профилирование в лонгитюдном режиме – это перспективное направление для развития методов персонализированной медицины [127].

Протеомные изменения

Тапака Т. с коллегами [126] с целью изучения протеомных признаков хронологического возраста обследовали когорту из 240 здоровых мужчин и женщин в возрасте 22–93 лет, которые не

имели клинических проявлений соматических заболеваний и когнитивных нарушений. Был количественно определен 1301 белок плазмы крови, анализом SOMAscan (SomaLogic, Боулдер, Колорадо, США). При использовании порога значимости $p \leq 3.83 \times 10^{-5}$, было показано, что 197 белков положительно коррелируют с возрастом, а 20 белков – отрицательно. При этом GDF15 имел самую сильную положительную корреляцию с возрастом ($p = 7.49 \times 10^{-56}$), но не был связан с рисками нарушений функции сердечно-сосудистой системы, такими, как уровень холестерина или маркеров воспаления. Функциональные пути, обогащенные 217 ассоциированными с возрастом белками, включали процессы свертывания крови, воспалительные пути, процессы, связанные с хемокинами, активностью пептидаз и апоптозом. Используя модели эластичной сетевой регрессии, авторы предложили протеомную сигнатуру возрастных изменений протеома на основе относительных концентраций 76 белков с наиболее значимыми корреляциями с хронологическим возрастом ($r = 0.94$), среди которых GDF15, фибриноген, фибронектин, SERPINF2, SERPING1, SERPINA3, TIMP1, TIMP3, CCL11, TNFRSF1A, TNFRSF1B и др. [126].

Xu R. с коллегами с помощью метода TMT-ЖХ-МС/МС исследовали протеом плазмы у 118 здоровых взрослых лиц разных возрастных групп: 21–30 лет (молодые), 41–50 лет (среднего возраста) и ≥ 60 лет (пожилые). Было показано, что число дифференциально экспрессируемых белков при сравнении групп молодых и среднего возраста, среднего возраста и пожилых, молодых и пожилых составило 82, 22 и 99 соответственно. Биоинформатические подходы анализа данных показали, что дифференциально экспрессируемые в группах белки обогащали такие физиологические процессы, как “негативная регуляция пролиферации гладкомышечных клеток”, “свертывание крови”, “каскады комплемента и коагуляции”. Функциональное фенотипирование протеома показало, что протеомные профили плазмы крови молодых людей разительно отличаются от профилей лиц среднего и пожилого возраста [136].

Liu C.W. с коллегами предоставили базу данных протеомов плазмы детей, от новорожденных до подростков, с продольными паттернами экспрессии 1747 белков. Из общего числа 970 белков плазмы имели возрастные тенденции экспрессии, что продемонстрировало важность лонгитюдного профилирования для выявления потенциальных биомаркеров, специфичных для выявления детских заболеваний, и необходимость строго соответствующих возрасту клинических

образцов в перекрестном исследовании в педиатрической популяции [74].

Существует большое количество литературы, подробно описывающей протеомные изменения при патологии, однако исследований по количественному исследованию протеома плазмы у здоровых детей до пяти лет по-прежнему недостаточно. В исследовании Vjelosevic S. с соавторами, используя SWATH-MS, идентифицировали и количественно определили белки плазмы крови здоровых новорожденных, младенцев до 1 года, детей в возрасте от 1 года до 5 лет и взрослых. Более 100 белков (из 940) показали значительные различия в уровнях экспрессии в этих возрастных группах. Протеомные профили плазмы новорожденных поразительно отличались от таковых у детей старшего возраста и взрослых. Результаты этого исследования отображают вариации в экспрессии белков и обогащении ими молекулярных путей, часто связанных с заболеванием, учет этого обстоятельства имеет важное клиническое значение [10].

Известно, что гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) обладает низкой трансцеллюлярной проницаемостью. Недавние исследования показали, что старение мозга чувствительно к циркулирующим белкам. Авторы использовали сотни меченых белков из протеома плазмы мыши и изучали их проникновение через ГЭБ в паренхиму здорового мозга животного. Показано, что в отличие от IgG-антител, поглощение белков плазмы уменьшается в старческом мозге, что обусловлено возрастным сдвигом в механизме транспорта от опосредованного лиганд-специфическим рецептором переноса к неспецифическому кавеоларному транцитозу. Этот возрастной сдвиг происходит наряду со специфической потерей покрытия перичитами. Фармакологическое ингибирование активируемой с возрастом щелочной фосфатазы, предполагаемого отрицательно регулятора транспорта, увеличивает поглощение мозгом терапевтически значимых уровней трансферрина, антител к рецептору трансферрина. Эти результаты выявляют как степень транцитоза физиологических белков в здоровом мозге, так и механизм широко распространенной дисфункции ГЭБ с возрастом, что дает направление для развития стратегии усиления доставки лекарств [138].

В работе [73] определены 15 белков плазмы, которые были связаны с риском снижения когнитивных функций у пожилых. Показано, что эту группу протеинов составляют 14 секреторных белков и 1 белок клеточной мембраны, в основном экспрессирующиеся вне ЦНС. В предшествующих данному исследованию работах сообщалось,

что белки SAP3, NPS-PLA2, IGFBP-7, MIC-1, TIMP-4 и OPG связаны с деменцией в исследованиях случай–контроль [15, 47, 139], а TREM2 и N-концевой про-BNP – в проспективных когортных исследованиях [92, 129]. Повышенный риск развития деменции отмечен у лиц с высоким уровнем SVEP1, HE4, CDCP1, SIGLEC-7, MARCKSL1, CRDL1 или RNAS6 в плазме. Наблюдаемые связи подкрепляются физиологически, поскольку существует несколько механизмов, которые могут связать 15 белков с патологиями деменции, включая иммунную дисфункцию, дисфункцию ГЭБ, повреждение сосудов и центральную резистентность к инсулину [11, 26].

Одним из сильнейших факторов риска развития болезни Альцгеймера (БА) является изменение транскрипции с аллели $\epsilon 4$ гена аполипопротеина E (APOE4), влияющей на способность связывать липиды. В головном мозге APOE секретируется преимущественно астроцитами и микроглией, а затем образует частицы, подобные липопротеинам высокой плотности (ЛПВП). Эта липидная форма APOE играет жизненно важную роль в транспорте холестерина, метаболизме липидов, метаболизме и клиренсе A β [137]. В исследовании механизмов развития БА Ojo J.O. с соавторами сравнили протеом образцов сосудов головного мозга из нижней лобной извилины здоровых людей и пациентов с БА той же возрастной группы [93]. Авторы наблюдали 217 дифференциально экспрессируемых белков в контрольной группе по сравнению с БА, при этом эти белки обогащали более 40 молекулярных путей, включая передачу сигналов EIF2, хемокинов и сиртуинов, окислительное фосфорилирование, митохондриальные функции, созревание фагосом, механизмы репарации ДНК. Наиболее значимо измененными путями из них были митохондриальная дисфункция и передача сигналов хемокинов, что указывает на то, что аллель/изоформа E2 может играть специфическую роль в аспектах энергетической биоэнергетики и транспорта иммунных продуктов в стареющем мозге. Эти протеомные изменения, по-видимому, затрагивают различные типы клеток, поскольку было обнаружено, что уровни экспрессии определенных важных белков при старении оказываются специфичными для гладкомышечных клеток, перичитов, астроцитов и клеток эндотелия сосудов [93].

Старение характеризуется накоплением повреждений и других изменений, ведущих к потере функциональности и адаптивного потенциала, что имеет негативные, пагубные последствия для организма. В процессе эволюции развились как уникальные, так и общие механизмы противодействия некоторым из этих изменений. Меха-

низмы защиты от повреждений в основном контролируются генетически. Характеристика последствий изменений в синтезе белка и точности трансляции, а также определение того, является ли измененная трансляция патологической или адаптивной, необходимы для понимания процесса старения, а также для разработки подходов к целевой регуляции трансляции как стратегии увеличения продолжительности жизни [7]. Функциональность всей системы белков в любом организме требует поддержания точного баланса процессов синтеза, деградации и функции каждого белка, при этом старение сдвигает этот баланс, что чаще всего приводит к патологии.

Проведенные к настоящему времени исследования показывают, что ни один лабораторный биомаркер не является специфическим в прогнозировании или диагностике старческой дряхлости. Однако многогранный патогенез этого состояния предполагает, что мультимаркерный подход, которому предшествует предварительная идентификация специфических сигнатур, может быть наиболее многообещающей стратегией в диагностике дряхлости. Мышечный протеом, хроническое слабовыраженное воспаление, наряду с характерными профилями сосудов и гемостаза, могут помочь в прогнозировании или диагностике дряхлости [93].

Jonker M.J. с коллегами сравнили протеомы образцов пяти различных тканей (печени, почек, селезенки, легких и мозга) мышей в возрасте от 3 мес. до 3 лет [55]. Они обнаружили несколько тканеспецифических эффектов, таких, как накопление липофусцина в головном мозге и печени, утолщение гломерулярной мембраны в почках, усиление перибронхиолярной лимфоидной пролиферации в легких. Также авторы обнаружили, что во всех тканях активируется *Lilrb4* (кодирующий лейкоцитарный иммуноглобулин, подобный рецептору V4). Транскриптомный анализ показал, что “иммунные гены” были подавлены в селезенке, но активизированы в почках и легких [55].

Известно, что старение связано с гипертонией и нарушением регуляции мозгового кровотока, которые являются основными факторами риска сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний. Rabaglino M.B. с соавторами стремились охарактеризовать возрастные изменения в сосудистом протеоме у здоровых мышей с использованием масс-спектрометрии и биоинформатического анализа, при изучении образцов средних мозговых артерий и резистентных брыжеечных артерий у молодых (3 мес.) и животных среднего возраста (14 мес.). Увеличение возраста значительно повлияло на 31 белок, тогда как 172 белка по-разному экспрессировались в зависи-

мости от типа сосуда. Иерархическая кластеризация показала, что экспрессия 207 белков была значительно изменена или сгруппирована по возрасту. Так, в KEGG наиболее обогащенными путями при увеличении возраста оказались: путь витамина B6, биосинтез антибиотиков, регуляция актинового цитоскелета и эндоцитоз. И хотя старение оказывает менее выраженное влияние на протеом исследованных образцов резистентной артерии, чем тип сосуда, регуляция актинового цитоскелета, включая путь *RhoA/Rho-kinase*, является важной мишенью в механизме возрастной гипертонии [105].

При старении миокард подвергается ряду структурных и функциональных изменений, которые могут наблюдаться на клеточном, внеклеточном и тканевом уровнях. Морфологическими признаками старения сердца являются прогрессирующая гипертрофия кардиомиоцитов, воспаление и постепенное развитие сердечного фиброза. С возрастом увеличивается отложение коллагена, способность к деградации внеклеточного матрикса (ЕСМ) также растет из-за повышенной экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs). Белки внеклеточного матрикса миокарда, накапливающиеся с возрастом, включают гликопротеины, протеогликаны, гликозаминогликаны, матрицеллюлярные белки и интегрины [82].

Старение кожи связано со структурно-функциональными изменениями внеклеточного матрикса, частично обусловленными протеолитической деградацией. Поскольку цистеиновые катепсины являются основными протеазами, расщепляющими матриксный белок, Panwar P. с коллегами исследовали возрастную экспрессию катепсинов K, S и V в коже человека, их влияние *in vitro* на целостность сети эластических волокон, особенности их расщепления и способность высвобождения биоактивных пептидов. В работе Panwar P. с коллегами показано снижение уровня катепсинов K, S и V в стареющей коже с преимущественной эпидермальной экспрессией, на фоне ухудшения структуры волокон из плотной сети более тонких фибрилл до пористой сетки [98]. Масс-спектрометрическое определение сайтов расщепления эластина показало, что все три катепсина расщепляют их преимущественно в гидрофобных доменах. Деградация эластиновых волокон приводила к высвобождению биоактивных пептидов, которые ассоциируются с различными патологиями. Таким образом, катепсины являются мощными расщепляющими эластин ферментами, способными генерировать множество эластокинов. Следовательно, они могут представлять собой мишень для стратегий вмешатель-

ства, направленных на замедление старения соединительной ткани [98].

Клеточное старение представляет собой сложную реакцию, вызывающую практически необратимую остановку клеточной пролиферации и развитие многокомпонентного секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP). SASP недавно стал объектом интенсивного изучения и многообещающей терапевтической мишенью для множества возрастных состояний, от нейродегенеративных заболеваний до рака. SASP состоит из множества цитокинов, хемокинов (CXCL), факторов роста и протеаз, которые инициируют воспаление, заживление ран и реакции роста в близлежащих клетках. В молодых здоровых тканях проявления SASP, как правило, носят транзиторный характер и способствуют сохранению или восстановлению тканевого гомеостаза, то есть являются адаптивными. Тем не менее, стареющие клетки увеличиваются с возрастом, и известно или предполагается, что хронически поддерживаемый SASP является ключевым фактором многих патологических признаков старения, включая хроническое воспаление, онкогенез и нарушение обновления стволовых клеток. Данные нескольких лабораторий убедительно подтверждают гипотезу, что стареющие клетки и появление SASP вызывают множественные возрастные фенотипы и патологии, включая атеросклероз, остеоартрит, дисфункции ССС и почек, а также снижение продолжительности жизни. Недавно было показано, что стареющие клетки секретируют в кровь биологически активные вещества, которые изменяют гемостаз и способствуют свертыванию крови. Следовательно, можно считать, что компоненты SASP обладают потенциалом в качестве биомаркеров плазмы для старения и связанных с возрастом заболеваний, которые отмечены наличием стареющих клеток [117].

Известно, что физические упражнения способствуют здоровому старению и смягчают возрастные патологии. Однако молекулярные основы этого явления остаются в значительной степени неясными. Недавние данные свидетельствуют о том, что упражнения способны модулировать протеом. Точно так же считается, что ограничение калорийности рациона (ОК), известный стимулятор продолжительности жизни, увеличивает качество внутриклеточного белка. Известно, что аутофагическая активность снижается с возрастом, а ингибирование рапамицинового комплекса 1 (TORC1) увеличивает продолжительность жизни. Ингибирование TORC1 может снизить выработку клеточных белков, наблюдаемое при старении. TORC1 также может проявлять свои эффекты за-

висимым от аутофагии образом. Упражнения и ограничение калорийности приводят к одновременному снижению активности TORC1 и усилению аутофагии в ряде тканей. Более того, TORC1, индуцированный физической нагрузкой, и передача сигналов аутофагии имеют общие пути с ОК. Таким образом, эффект долголетия при использовании в качестве профилактической меры физических упражнений и ОК может быть связан с поддержанием протеома за счет балансировки синтеза и рециркуляции внутриклеточных белков и, таким образом, может представлять собой практическую рекомендацию для увеличения продолжительности жизни [27].

Проспективное исследование, выполненное в университете Уппсалы (Швеция) с целью исследования связи между возрастным изменением рСКФ и повышением уровня белков в плазме принимало участие 1016 человек в возрасте 70–80 лет. Измерение скорости клубочковой фильтрации (рСКФ), уровня гемоглобина и концентрации 84 белков методом протеомики, показало, что в течение 10-летнего наблюдения шестьдесят один из 84 белков достоверно увеличился. Показатели рСКФ были обратно пропорциональны изменениям уровней 74% белков. Изменение концентрации гемоглобина было достоверно связано с параметрами 40% оцениваемых белков. Повышение уровня белков в плазме крови с возрастом, как полагают авторы, было связано со степенью снижения рСКФ для большинства белков, при этом четкой связи между концентрациями белков и изменением уровня гемоглобина не наблюдалось [72].

Исследование зависимости протеома от возраста человека выполнялось на образцах как крови, так и мочи человека. Пастушковой Л.Х. с соавторами анализировались образцы мочи 32 добровольцев-мужчин, при этом группа была равномерно разделена на подгруппы: 20–30, 30–40, 40–50, 50–60 лет. Состояние здоровья обследованных подтверждалось врачебной экспертной комиссией. Были выявлены достоверные возраст-зависимые изменения протеома мочи ($p < 0.05$): уровень семи белков достоверно снижался (кератин 2, C1-ингибитор белка плазмы, альфа-1 субъединица коллагена VI типа, тирозин-протеинкиназный-рецептор *UFO*, липопротеиновый рецептор-родственный белок 2 низкой плотности, белок молекулы клеточной адгезии 4 и гемисенрин 1), у пяти – увеличивался (альфа-2-*HS*-гликопротеин, кадгерин 1, альфа-цепь фибриногена, везикулярный интегральный мембранный белок VIP36, иммуноглобулин каппа переменной 3–20). Выявлено 177 достоверно различающихся процессов, которые объединены в семь подгрупп с дву-

мя белками-участниками. Так, с возрастом изменяется активность ряда внутриклеточных процессов, характер ответных реакций на стимулы, отмечено изменение внутриклеточного транспорта, адгезии, реакций иммунной системы, “воспалительного ответа”, метаболизма соединительной ткани. Авторы работы делают вывод, что исследования протеома мочи могут быть полезны для решения диагностических задач, необходимых в разработке современных и инновационных методов диагностики, профилактики и лечения состояний, ассоциированных с возрастом [4].

Известно, что с возрастом иммунная система претерпевает множество изменений. Нарушаются как адаптивные, так и врожденные иммунные механизмы, о чем свидетельствуют антиген-независимое снижение клеточной пролиферации и функции, миграции, разнообразия Т-клеточных рецепторов, секреции антител, фагоцитарных способностей, цитотоксичность и широкое нарушение регуляции цитокинов и хемокинов. Показано, что старение выражено влияет на гуморальный иммунитет, так как с возрастом ухудшаются аффинность антител и адаптивные иммунные процессы, которые приводят к их выработке. Кроме того, значительно снижается активность гемопоэза [97], антигенпрезентирующие клетки снижают экспрессию комплекса пептид-МНС-II [8], а эффекторные клетки антител демонстрируют снижение функционального клиренса IgG-связанных патогенов [112].

Хотя давно установлено, что выработка антител у человека изменяется с возрастом, это может привести к повышению ауоиммунной активности, что влияет на широкие показатели качества жизни. Обнаружено, что разнообразие В-клеток от доноров старше 86 лет по сравнению с донорами моложе 54 лет резко снижено, что коррелирует с показателями слабости, выживаемости и дефицита витаминов [38]. Изучение комбинаций воспалительных маркеров (CRP, IL-6, IL1 β , sTNFAR1) прогнозируют риск сердечно-сосудистых заболеваний и смертность от всех причин в долгосрочной перспективе у пожилых людей [130].

Авторы работы [8] были заняты поиском надежного долгосрочного биомаркера гуморального иммунного старения. Используя пептидные микрочипы высокой плотности, они охарактеризовали связывание сывороточных антител с их сайтами в когорте из 1675 доноров. Были обнаружены тысячи пептидов, связывающих антитела в зависимости от возраста. Профили связывания пептидов были объединены в “иммунный возраст” с помощью регрессионной модели машинного обучения, который сильно коррелировал с хроно-

логическим возрастом. Применяя регрессионную модель к другим донорам, исследователи обнаружили, что прогнозируемый иммунный возраст донора устойчив в течение многих лет, что позволяет предположить, что он может быть надежным долгосрочным биомаркером гуморального иммунного старения. Анализ сыворотки доноров с аутоиммунными заболеваниями показал выраженную связь между “ускоренным иммунным старением” и активной фазой аутоиммунного заболевания. Arvey A. с коллегами делают вывод о том, что у пожилых лиц репертуар циркулирующих антител увеличивает связывание с тысячами пептидов, содержащих дисериновые мотивы, что может быть представлено как иммунный возраст [8].

Hirata T. с коллегами [48] занимались выявлением конкретных биомаркеров, способствующих исключительной естественной выживаемости на примере групп долгожителей: 36 сверх-долгожителей в возрасте ≥ 110 лет, 572 полудолгожителей (105–109 лет), 288 долгожителей (100–104 года) и 531 очень старых людей (85–99 лет). Уникальный набор данных показал, что N-концевой натрийуретический пептид про-В-типа (NT-proBNP), интерлейкин-6, цистатин С и холинэстераза связаны со смертностью от всех причин независимо от традиционных сердечно-сосудистых факторов риска и плазменного альбумина. Из них низкие уровни NT-proBNP статистически связаны с преимуществом в выживаемости по сравнению с более чем столетним возрастом. С высокой смертностью в разных возрастных группах связан только низкий уровень альбумина [48].

Moaddel R. с коллегами провели мета-анализ результатов протеомных работ, проведенных на разных биологических материалах: плазма, сыворотка, моча, слюна, образцы тканей с целью идентификации белков, связанных с возрастом. Авторы идентифицировали 232 белка данной категории и выявили метаболические пути, обогащенные данными белками и связанные с биологическим старением как на животных моделях, так и у людей. К ним относятся в первую очередь передача сигналов инсулиноподобного фактора роста (IGF), митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK), индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF1), передача сигналов цитокинов, пути метаболизма Forkhead Box O (FOXO), метаболизм фолиевой кислоты, метаболический путь конечных продуктов гликирования (AGE) и путь метаболизма рецептора AGE (RAGE) [85].

Многочисленными исследованиями показано, что уровни GDF15 повышаются у животных с митохондриальной дисфункцией, у пациентов с митохондриальными заболеваниями и у пожилых

людей, возможно, в ответ на нарушение гомеостаза кальция и чрезмерный окислительный стресс [108, 109].

Транскриптомные изменения

Ученые сталкиваются с четырьмя основными проблемами, когда пытаются более полно понять биологические факторы, влияющие на скорость старения в естественных популяциях. Во-первых, несмотря на значительный прогресс в понимании молекулярных основ старения, всестороннее понимание причинных механизмов, как молекулярных, так и экологических, влияющих на старение, возрастные заболевания и продолжительность жизни отсутствует. Ранние молекулярно-генетические исследования старения были сосредоточены на понимании регуляции активности отдельных генов, которые оказывали значительное влияние на возрастные заболевания и продолжительность жизни. Было обнаружено, что выключение сотен отдельных генов и белков [125] увеличивает продолжительность жизни [44]. Однако в популяционных исследованиях на человеке большинство из этих генов не обнаруживают значительных вариаций, в отличие от эффектов, наблюдаемых у модельных организмов. Следовательно, можно предположить, что они могут не вносить существенного вклада в естественные вариации темпов старения и уровней долголетия.

Второй проблемой при попытке понимания молекулярных механизмов, влияющих на старение и продолжительность жизни является то, что по сравнению с лабораторными модельными организмами люди чрезвычайно генетически разнообразны. У людей, по сравнению с модельными организмами, было обнаружено несколько генов (локус ТОММ40/АРОЕ/АРОС1), оказывающих большое влияние на продолжительность жизни или возрастные заболевания [22]. Так, показано, что наиболее воспроизводимым и значительным фактором, влияющим на продолжительность жизни, является ген АРОЕ, связанный с риском развития болезни Альцгеймера [16].

В-третьих, огромное влияние на процессы старения и связанные с возрастом заболевания может оказывать окружающая среда, но определение специфического воздействия незначительных изменений в окружающей среде, а также взаимодействий между генами и окружающей средой на старение и продолжительность жизни доказать сложно [21].

Тем не менее, с помощью технологий ОМИК активно продолжаются исследования с целью идентификации в крови специфических и воспроиз-

водимых “биомаркеров”, которые могут являться предикторами биологического старения.

Старение представляет собой сложный процесс, который может характеризоваться снижением функциональных и когнитивных функций человека. Этот процесс можно оценить на основе функциональной способности отдельных, жизненно важных органов, а также их сложных взаимодействий друг с другом. Признается, что для того, чтобы полностью понять сложность старения, необходимо исследовать не отдельную ткань или биологический процесс, но его сложное взаимодействие и взаимозависимость с другими биологическими процессами в организме. В экспериментальной работе Srivastava A. с коллегами с помощью секвенирования РНК изучали изменения транскриптома при старении в тканях мозга, в крови, коже и печени у мышей в возрасте 9, 15, 24 и 30 мес. [117]. Удалось идентифицировать гены и процессы, которые по-разному регулировались при старении животных. Было обнаружено, что электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий была одинаково затронута на уровне транскриптома в четырех тканях. Печень оказалась тканью, демонстрирующей наибольшее разнообразие дифференциально экспрессируемых генов с возрастом. Было обнаружено, что Lcn2 (липокалин-2) однотипно регулируется во всех тканях, и его влияние на продолжительность жизни и выживаемость было подтверждено на модельном объекте почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Исследование показало, что молекулярные процессы старения относительно незаметны в своем развитии, и процесс старения каждой ткани зависит от ее специализированной функции и влияния окружающей среды. Следовательно, регуляция экспрессии отдельного гена, ведущая к изменению молекулярного процесса, сама по себе не может быть ключом к пониманию процесса старения всего организма [117].

Одним из важных подходов к пониманию механизмов старения является изучение изменений уровней экспрессии генов в разном возрасте. Во многих независимых исследованиях, основанных на экспериментах с использованием микрочипов или секвенированием РНК, сообщалось об увеличении экспрессии генов ответа на воспаление и стресс наряду с накоплением, с возрастом, убиквитинированных белков [55, 120]. Некоторые специфические гены связаны со старением. По-видимому, “специфическими генами” связанными со старением, являются: члены семейства катепсинов, гены аполипопротеинов, гены, продукты которых участвуют в системе комплемента, члены надсемейства генов преобразователя сигнала и

активатора транскрипции (STAT) и гены рецептора фактора некроза опухоли (TNFR) [95].

Исследование Ni X. соавторами было направлено на изучение взаимосвязи между вариантами гена ABO, уровнями липидов и фенотипом долголетия в когорте 5803 субъектов долголетия (старше 90 лет) и 7026 молодых людей из контрольной группы. Были идентифицированы четыре варианта гена ABO, связанные со здоровым долголетием (rs8176719 C, rs687621 G, rs643434 A и rs505922 C), при этом было обнаружено, что их встречаемость значительно выше у долгожителей, чем в контрольной группе. Анализ генотипа и метаболического фенотипа показал, что долгожители с rs687621 GG, rs643434 AX и rs505922 CX имели достоверную положительную связь с HDL-с, LDL-с, TC, TG и нормальным уровнем ИМТ. Были выдвинуты предположения о двух путях, включающих vWF/ADAMTS13 и маркеры воспаления (sE-селектин/ICAM1), которые совместно регулируют уровни липидов путем гликозилирования и взаимовоздействия [91].

Метаболомные и липидомные изменения

Отдельной проблемой остается огромная механистическая дистанция между событиями, происходящими в геноме и последующими фенотипами старения. В работе Hoffman J.M. с соавторами рассматривается возможности изучения “эндофенотипов” в контексте старения. Авторы определяют эндофенотипы как различные молекулярные домены, существующие на промежуточных уровнях организации между генотипом и фенотипом. Именно протеомное и метаболомное профилирование может помочь определить основные причинные механизмы, связывающие генотип с фенотипом в процессах старения [50]. В перекрестных исследованиях биомаркеров за последние 5–10 лет были предприняты попытки выявить предикторы возрастных заболеваний. В них были идентифицированы протеомные и метаболомные биомаркеры ишемической болезни сердца [99], сердечной недостаточности и атеросклероза [144], которые были связаны не только с будущими сердечно-сосудистыми событиями, но и с риском смерти от сердечно-сосудистых заболеваний в течение 18-летнего периода наблюдения [81]. Эти сердечно-сосудистые исследования показывают, что обилие дифференциально регулируемых белков воспалительного ответа может быть потенциальными биомаркерами сердечно-сосудистых событий. Наконец, существуют метаболические и протеомные биомаркеры взаимодействий между возрастными заболеваниями. Например, метаболомный анализ выявил значи-

тельно более низкие уровни глицерофосфолипидов у пациентов с сахарным диабетом второго типа (СД2) по сравнению с контрольной группой, причем самые низкие уровни наблюдались у лиц с СД2 и сопутствующим диагнозом сердечно-сосудистых заболеваний [35]. Не только протеомика и метаболомика могут привести к разработке новых прогностических биомаркеров возрастных заболеваний. Так, для оценки рисков в ССС в качестве потенциальных маркеров были предложены низкомолекулярные соединения липопротеинов низкой плотности [51].

Известно, что метаболом представляет собой функциональную конечную точку сложной сети биологических событий, которая включает геномные, эпигеномные, транскриптомные, протеомные факторы и факторы окружающей среды. Понимание того, как метаболом меняется с возрастом, облегчает идентификацию профилей высокого риска конкретных заболеваний. Данной проблеме посвящен ряд работ: влиянию возраста и пола на метаболом [63, 106], в том числе на данных полногеномного генотипирования [20], возраст-зависимые изменения в исследованиях лонгитюдного дизайна [80]. Так, результаты Darst В.Ф. с соавторами показали, что из общего числа 34 протестированных стероидных липидов 29 значительно снижались с возрастом (в том числе 19/22 андрогенных, 5/5 прогестинных, 4/4 прегненолона и 1/3 кортикостероидов), в то время как 11-кетозтиохоланолон глюкуронид, неактивный андрогенный стероид и метаболит кортизола, значительно увеличиваются с возрастом. Более высокие уровни большинства липидов жирных кислот были связаны с возрастом, включая 13/14 длинноцепочечных жирных кислот, 28/34 ацилкарнитинов и 42/78 других жирных кислот, наряду с более высокими уровнями сфинголипидов, как правило, наблюдавшимися у пожилых [20].

Показано, что не только протеом, но и состав липидома плазмы существенно меняется с возрастом [20]. Так, уровни одних фосфолипидов (ФГ) с возрастом увеличиваются, а других снижаются [25]. Также наблюдались гендерные различия в липидоме плазмы [63], и часть из них были связаны с возрастом [135].

Липидомика внесла свой вклад и в изучение патогенеза болезни Альцгеймера (БА) — было показано, что уровни лизофосфатидилхолина (LPC) и фактора активации лизотромбоцитов (PAF) повышаются при старении и связаны с развитием БА [25]. Следовательно, эти показатели крови могут быть одними из наиболее важных видов липидов для мониторинга риска развития БА время старения. Полагают, однако, что у пожилых людей могут быть разные модели изменения уровня

липидов по сравнению с молодыми и людьми среднего возраста [86, 135].

Лонгитюдное исследование биомаркеров здорового долголетия (HABCS, 2008–2017 гг.), выполненное в Китае, было организовано для изучения детерминант здорового старения и причин смертности среди самых пожилых людей, с 6333 участниками, в их числе 1385 долгожителей, 1350 человек старшего возраста, 1294 человека восьмидесятилетнего возраста, 1577 “молодых пожилых” людей (65–79 лет). Авторы показали, что более высокие уровни общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и активности супероксиддисмутазы были связаны с более выраженным снижением когнитивных функций. В то же время более высокий уровень LDL-C был связан с более низким риском смертности от всех причин. Также была обнаружена обратная связь между витамином D в плазме и когнитивными нарушениями в исследованной когорте [78].

В целом оказывается, что у разных организмов обнаруживается значительно больше ассоциаций метаболитов с возрастом по сравнению с дифференциально экспрессируемыми белками. Это предполагает, что изменения в количественных оценках и потоке метаболитов могут быть биологически более важными для фенотипа старения, чем концентрации белка. Расшифровка метаболических путей, которые по-разному регулируются в процессе старения организма, приводит к новым гипотезам о лежащих в их основе биологических процессах, которые могут влиять на старение и продолжительность жизни. Эта биоинформатическая работа привела исследователей к формированию сетевой структуры различных биологических явлений, поскольку все больше данных свидетельствует о том, что перекрестные помехи между различными путями оказывают значительное влияние на старение [52]. Этот подход системной биологии позволяет исследовать гипотезу, что на процесс старения могут фундаментально влиять возрастные изменения самой сетевой структуры. В этом случае следует сосредоточить усилия на изучении изменений в перекрестных помехах между биохимическими блоками “внутреннего хозяйства”, которые играют равную или более важную роль, чем изменения в концентрациях отдельных белков и метаболитов, а также экспрессии генов [24]. Изучение сетевой структуры дает преимущество для понимания полной картины биологических механизмов, влияющих на старение, возрастные заболевания и продолжительность жизни [50]. Немногочисленные пока результаты, полученные в экспериментальных исследованиях данного направле-

ния, показали, что стабильность сети нарушается у старых животных на уровне транскриптома, протеома и метаболома [67]. То есть по мере того, как сети молекулярных взаимодействий у стареющих животных распадаются на мелкие, не сообщающиеся части, процесс клеточного гомеостаза резко нарушается [50].

Таким образом, помимо изучения собственно молекулярных механизмов старения организма человека на системном, тканевом и клеточном уровне, что имеет фундаментальное значение, использование технологий ОМИК дает ценную информацию о существующих контррегуляторных механизмах болезней, связанных со старением, и их возрастной динамике. В поисках биомаркеров иммунного старения (гуморального звена), нарушения когнитивных функций, рисков развития метаболического синдрома и заболеваний ССС одновременно открываются перспективные мишени для разработки новых фармакологических, в том числе – профилактических средств.

Отметим, что регуляция экспрессии отдельного гена, ведущая к изменению молекулярного процесса, сама по себе не может быть ключом к пониманию процесса старения всего организма, в связи с чем ни один лабораторный биомаркер не является специфическим в прогнозировании или диагностике дряхлости. Однако многогранный патогенез этого состояния предполагает, что мультимаркерный подход, которому предшествует предварительная идентификация специфических белков, может быть наиболее многообещающей стратегией в диагностике возрастных изменений, а также для развития методов персонализированной медицины.

Так, с возрастом изменяется активность ряда внутриклеточных процессов, характер ответных реакций на стимулы, отмечено изменение внутриклеточного транспорта, адгезии, реакций иммунной системы, метаболизма соединительной ткани. Стареющие клетки секретируют в кровь биологически активные вещества, которые изменяют гемостаз и способствуют активизации процессов свертывания крови. Компоненты SASP обладают потенциалом в качестве биомаркеров старения и связанных с возрастом заболеваний, которые отмечены увеличением числа стареющих клеток.

Во многих независимых исследованиях сообщалось об обнаружении отдельных “специфических” генов, связанных со старением. По-видимому, этими связанными со старением генами являлись: члены семейства катепсинов, гены аполипипропротеинов, гены, продукты которых участвуют в системе комплемента, члены надсемей-

ства генов преобразователя сигнала и активатора транскрипции (STAT) и гены рецептора фактора некроза опухоли (TNFR). Биоинформатические подходы анализа данных протеомики показали, что функциональные пути, обогащенные ассоциированными с возрастом белками, включали процессы свертывания крови, воспалительные пути, процессы, связанные с хемокинами, активностью пептидаз. В соответствии с данными KEGG, наиболее обогащенными путями при увеличении возраста человека оказались: путь витамина B6, биосинтез антибиотиков, регуляция актинового цитоскелета и эндоцитоз. Старению сопутствуют увеличение отложения коллагена, повышается активность процессов деградации внеклеточного матрикса из-за повышенной экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs). Показано, что белки внеклеточного матрикса миокарда, накапливающиеся с возрастом, включают гликопротеины, протеогликаны, гликозаминогликаны, матрицеллюлярные белки и интегрины. Регуляция актинового цитоскелета, включая путь RhoA/Rho-kinase, является важной мишенью в механизме возрастной гипертензии. GDF15 также имел самую сильную положительную корреляцию с возрастом. Выявлено, что наиболее воспроизводимым фактором, влияющим на продолжительность жизни, является ген APOE, связанный с риском развития болезни Альцгеймера. Наиболее значимо измененными является митохондриальная дисфункция и передача сигналов хемокинов, что указывает на то, что аллель/изоформа E2 может играть специфическую роль в аспектах энергетической биоэнергетики и транспорта иммунных продуктов в стареющем мозге.

Мета-анализ результатов протеомных работ, проведенных на образцах разных биологических материалов: плазме, сыворотке крови, моче, слюне, биопсийных образцах тканей с целью идентификации белков, связанных с возрастом показал, что как на животных моделях, так и у людей 232 белка связаны с биологическим старением. К ним относятся в первую очередь передача сигналов инсулиноподобного фактора роста (IGF), митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK), индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF1), передача сигналов цитокинов, пути метаболизма Forkhead Box O (FOXO), метаболизм фолиевой кислоты, метаболический путь конечных продуктов гликирования (AGE) и путь метаболизма рецептора AGE (RAGE).

Определенный вклад в изучение возраст-специфических метаболитов вносит липидомика. Так, показано, что с возрастом были связаны более высокие уровни большинства липидов жирных кислот, включая 13/14 длинноцепочечных

жирных кислот, 28/34 ацилкарнитинов и 42/78 других жирных кислот, наряду с более высокими уровнями сфинголипидов, которые, как правило, наблюдаются у пожилых. Были выдвинуты предположения о двух путях, включающих vWF/ADAMTS13 и маркеры воспаления (sE-селектин/ICAM1), которые совместно регулируют уровни липидов путем гликозилирования и взаимовоздействия.

ВЛИЯНИЕ ДИЕТЫ НА ПРОТЕОМ КРОВИ

Известно, что условия окружающей среды, такие как диета и образ жизни, влияют на профиль белков в крови. Появление уникальных биомаркеров в крови, их обмен с тканями – обеспечивает моментальный снимок функционирования и состояния здоровья организма, тканей и органов. Циркулирующие биомаркеры могут находиться в форме белков, малых молекул, гормонов, пептидов или ферментов. Присутствие и уровень этих компонентов крови динамично и подвержено влиянию внутренних и внешних факторов [134].

Необходимый уровень обмена с внешней средой, для поддержания нормальной жизнедеятельности, реализуется в виде белкового, липидного, углеводного, минерального и водного обмена. Протеомика питания, которая определяется как изучение влияния пищевых ингредиентов на регуляцию экспрессии белка, как полагают, дает новое понимание сложных взаимодействий регуляции синтеза и процессинга белков и улучшает наше понимание механизмов влияния диеты на организм. Так, длительное переизбыточное потребление пищи с высоким содержанием жиров являются основными причинами увеличения частоты встречаемости метаболического синдрома в популяции. Benard O. et al. при анализе протеома печени мышей, получавших нормальную диету по сравнению с таковой с высоким содержанием жиров, выявили, с помощью жидкостной хроматографии-тандемной МС (LC-MS/MS) 965 белков, среди которых 122 были со значительной дифференциальной экспрессией и 54% из них оказались вовлечены в метаболизм липидов [9]. В исследовании Liao C.-C. et al. ткани печени сирийских хомяков показано, что воспалительные маркеры мембраносвязанных белков A3 (ANXA3) и A5 (ANXA5) активируются при высоком содержании жиров в диете [69]. Sleddering M.A. et al. исследовали протеом крови пациентов с ожирением и диабетом 2 типа (СД2), используя MS/MS и мониторинг множественных реакций (MRM), а также iTRAQ (количественное определение белка с контролем качества). Сравнение клинических групп с ожирением и СД2 при низкокалорийной

диете показало, что уровень нескольких белков (фибриноген, транстретин, комплемент С3, апо-липопротеины, особенно аполипопротеин А-IV), различались между группами, что позволяет их квалифицировать как потенциальные биомаркеры состояния при данных патологических состояниях [115].

Использование протеомики при исследовании влияния диеты на функциональное состояние организма не только предоставляет возможность показать потенциальные молекулярные механизмы до-клинических и патологических состояний, но и предложить профилактические меры с оценкой их эффективности. При исследовании влияния особенностей диеты на функции ЦНС, Kanoski S.E. et al. показано, что типичная западная диета (с высоким содержанием жиров и углеводов) нарушает когнитивные функции [56]. В то же время повышение уровня потребления флавоноидов положительно коррелирует со снижением когнитивных нарушений, снижая риск болезни Альцгеймера, и замедляя прогрессирование нейродегенеративных заболеваний [116]. Negurkar P.V. et al. в целях разработки потенциальных стратегий лечения нейровоспаления, связанного с ожирением, исследовали защитные эффекты *Momordica charantia* (горькой дыни) на проницаемость гематоэнцефалического барьера, эффекты стресса и нейровоспалительную экспрессию цитокинов. Показано, что потребление горькой дыни значительно снижает окислительный стресс и экспрессию провоспалительных цитокинов, наряду с улучшением проницаемости гематоэнцефалического барьера [90]. Имеются убедительные доказательства того, что окислительный стресс выражено поражает системы антиоксидантной защиты, включаясь в патогенез всех типов поражения печени [76]. В связи с этим Lin B.R. et al. изучали влияние экстракта зеленого чая на регуляцию экспрессии белка в экспериментальной модели вирусного гепатита, с признаками воспаления и апоптоза. Методы протеомики для изучения уровней белковых биомаркеров показали, что лечение зеленым чаем вызывало дифференциальные изменения экспрессии 6 цитокинов (CINC-3, CTNF, MCP-1, MIP-3 α , TIMP-1 и TNF- α), а также подавление активности образования активных форм кислорода при усилении механизма антиоксидантной защиты, что привело к защите от апоптоза [70]. Zhu S. et al. использовали МС-анализ, чтобы показать, что экстракт бобов мунг ингибирует секрецию воспалительных цитокинов и хемокинов, которые оказывают защитное действие при сепсисе [143].

Спектр применения методов протеомики на основе масс-спектрометрии достаточно широк. Так, Machado-Fragua M.D. с коллегами [79] оценивали, в течение 13 лет, в когорте пожилых пациентов (с участием 644 лиц в возрасте ≥ 55 лет) взаимосвязь обеспечения витамином К и развитием слабости. Авторы убедительно показали, что исходно низкий уровень витамина К в плазме (использовался матриксный белок Gla (dp-ис-MGP) как маркер статуса витамина К) был связан с большей степенью слабости и риска ее развития у пожилых людей [79].

Протеомика может способствовать пониманию механизмов, связывающих диету с хроническими заболеваниями, вскрывая биологические механизмы, лежащие в основе связи здорового питания с переходом заболеваний в хроническую фазу. Так, предполагается, что здоровая диета уменьшает повреждение сосудов за счет ослабления воспалительных реакций. Framingham Heart Study [59] в обширном популяционном исследовании (6360 человека со средним возрастом 50 лет) изучали взаимосвязь между качеством диеты и уровнем 71 белка крови, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ). Показано, что тридцать из 71 белка были связаны с качеством диеты ($P < 0.0007$). Анализ GO выявил молекулярные пути, связывающие эти белки с провоспалительной активацией, такими как регуляция гибели клеток и нейровоспалительная реакция ($P < 0.05$). В течение периода наблюдения в 13 лет авторы документировали 512 смертей и 488 случаев развития сердечно-сосудистых заболеваний в данной когорте. Высокие показатели качества диеты были связаны с более низким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний ($P \leq 0.03$) и смертности ($P \leq 0.004$). При этом 4 белка (B2M [бета-2-микроглобулин], GDF15 [фактор дифференциации роста 15], sICAM1 [растворимая молекула межклеточной адгезии 1] и UCMGP [некарбоксилированный матриксный Gla-белок]) опосредовали связь между качеством диеты и смертностью от всех причин, а GDF15 ассоциировался с альтернативным индексом здорового питания и с сердечно-сосудистыми заболеваниями [59].

Другие исследования также предоставляют убедительные доказательства того, что протеомный анализ крови и тканей может представить важные данные для выявления молекулярных путей, лежащих в основе влияния питания на профилактику заболеваний [83]. Так, исследование "Нутригеномика и здоровье" в Канаде показало, что диета в западном стиле связана с 25 белками, участвующими в коагуляции и метаболизме липидов среди 54 предполагаемых белков-биомар-

керо сердечно-сосудистых заболеваний [34]. В Швеции протеомное исследование крови двух популяционных когорт выявило 184 циркулирующих белка, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, причем уровень 21 белка модифицировался режимом питания [133]. Эти белки были участниками молекулярных путей регуляции воспаления и метаболизма липидов: отмечена отрицательная корреляция концентраций PAI1 (ингибитора активатора плазминогена 1), MPO (миелопероксидазы), APOB (аполипопротеина B), GDF15 и HPX (гемопексина) с качеством диеты. Высокие показатели качества диеты, отражающие здоровую диету, были связаны с более низким уровнем этих белков. Аналогичные результаты, свидетельствующие об обратной связи между качеством диеты и биомаркерами воспаления, продемонстрированы в работах Fung T.T. et al. и Ahmad S. et al. [6, 31]. Исследование, выполненное в рамках Инициативы по охране здоровья женщин [77], показало, что Growth/differentiation factor 15 (GDF15) может частично объяснить влияние питания на смертность от всех причин.

Биоинформатические подходы в протеомике позволили показать, что существует взаимосвязь между качеством диеты и смертностью, не связанная с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [59]. Так, Schurgers L.J. с коллегами изучали посттрансляционные модификации (ПТМ) неактивной формы Matrix Gla protein (MGP), некарбосилированной формы (ucMGP). Оказалось, что частота ПТМ ucMGP зависит от уровня обеспеченности витамином К [111]. Показано, что ucMGP является фактором риска артериальной кальцификации [131], коррелирующим с повышенным риском смертности [49].

Протеомика вкрупне с метаболомными исследованиями позволяет выяснять молекулярные механизмы метаболических расстройств и предлагать уровень определенных циркулирующих молекул в качестве маркеров для диагностики и мониторинга. Известно, что лептин регулирует пути энергетического метаболизма, размножения и контролирует аппетит. Kumag A.A. с коллегами [65] стремились выяснить, существует ли связь между уровнями лептина и уровнями метаболитов энергетического обмена. Метаболомный анализ плазмы 110 здоровых взрослых лиц (возраст 18–40 лет), выполненный с использованием LC-MS/MS, показал, что уровень лептина имеет достоверную связь со значительным числом метаболитов в крови обоих полов: он положительно коррелирует с холилглицином и арахидоновой кислотой, метаболитами, связанными с энергетическим метаболизмом, прегнандиол-3-глюкуронидом, метаболитом метаболизма про-

гестерона; и он отрицательно связан с уровнями природных флeботропных соединений. Исследование показало, что уровень лептина отражает различные изменения метаболизма у мужчин и женщин служит полезным маркером для выявления ранних изменений в энергетическом и гормональном метаболизме [65].

Большой раздел протеомных приложений относится к проблемам геронтологии. Аминокислоты признаются ключевыми элементами в регуляции процесса старения, который сопровождается прогрессирующей потерей мышечной массы. На здоровье пожилых влияет потребление аминокислот с пищей. В работе Caballero F.F. с коллегами оценивалась предполагаемая связь между доступностью аминокислот в диете и нарушением функции нижних конечностей (ILEF) у пожилых людей [13]. Исследование включало пациентов с ILEF (43 случая) и 85 лиц контрольной группы, соответствующих по возрасту и полу. Концентрации 20 видов аминокислот в плазме были измерены методом LC-MS/MS в исходном уровне и через 2 года. Показано, что более высокие уровни триптофана были связаны со сниженным 2-летним риском развития ILEF, в то время как глутамин и общее количество незаменимых аминокислот были связаны с более высоким риском развития данного нарушения. Авторы считают, что некоторые виды аминокислот могут служить маркерами риска снижения физической функции у пожилых людей, а здоровое питание может снизить избыточный риск ILEF [13].

С целью дальнейшего развития фармакологических методов лечения компонентов метаболического синдрома (МС), которых, по-видимому, в настоящее время недостаточно для контроля развития неблагоприятных последствий МС, исследовался эффект интервального голодания, от рассвета до заката, такой формы голодания, которая практикуется в часы активности человека. Изучение воздействия данного подхода при МС проведено на 14 субъектах в течение 4-х нед., методами протеомики. Антидиабетический и антивозрастной протеомный ответ регистрировался путем активизации ключевых регуляторных белков передачи сигналов инсулина в конце 4-й недели и спустя неделю после него. Данные свидетельствуют о том, что прерывистое голодание от рассвета до заката активно модулирует экспрессию определенных генов и может служить дополнительным лечением МС [84].

Для анализа влияния длительной изоляции на белки мочи, экспрессируемые в эндотелии, выполнено хромато-масс-спектрометрическое исследование белкового состава образцов мочи 6 добровольцев, участников комплексного экспе-

римента с изоляцией в гермообъекте в течение 105 сут. Их жизнедеятельность в гермообъекте протекала при контролируемом, но директивно изменяющемся режиме потребления соли от 6 до 12 г/сут. Использовались современные методы протеомики наряду с различными биоинформационными подходами. Всего в моче идентифицировано 2037 белков. Среди выявленных протеинов определено 164 белка, экспрессируемых преимущественно эндотелиальными клетками сосудов человека. Определена корреляция частоты их выявления с уровнем солепотребления в каждом экспериментальном периоде. Так, частоты выявления бета-амилоида, эндосиалина, белка CD90, N субъединицы тетрамерного фермента лактатдегидрогеназы имели достоверный уровень линейной корреляции с солепотреблением. Следовательно, комплекс факторов длительной изоляции незначительно воздействовал на функциональное состояние эндотелия [3].

Анализ выявил положительную регуляцию белка аполипопротеина A IV (АРОА4) в плазме человека после 8-недельного интервального голодания. В дополнение к АРОА4, также наблюдались значительные изменения в CLU, АРОС2, АРОС3 и АРОА2, которые связаны либо с метаболизмом липидов, хиломикронов, либо частиц ЛПВП. Особый интерес представляет снижение количества белка АРОС3 в плазме при интервальном голодании, поскольку ранее было продемонстрировано снижение липолиза триглицеридов за счет направленного ингибирования липопротеинлипазы (LPL), а также снижение поглощения триглицеридов в ткани, такие как печень [42].

В нескольких исследованиях на животных изучались молекулярные механизмы влияния диеты с высоким содержанием жиров на продолжительность жизни при контроле потребления энергии. В протеомном исследовании Shi D. с коллегами [113], выполненном в образцах крыс и мух, было обнаружено, что по сравнению с обычной диетой, изокалорийная диета с умеренным высоким содержанием жиров (ИHF) значительно продлевает продолжительность жизни за счет снижения профиля свободных жирных кислот (FFA) в сыворотке и многих тканях посредством подавления анаболизма FFA и активизации путей катаболизма. Протеомный анализ у крыс идентифицировал Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-related protein 1 (PPRC1) как ключевой белок, уровень которого повышался почти в 2 раза с помощью ИHF, и только пальмитиновая кислота (РА) отрицательно коррелировала с экспрессией PPRC1. Используя мух со сверхэкспрессией PPRC1, а также в экспериментах *in vitro*, авторы продемонстрировали, что ИHF зна-

чительно снижает РА, что может потенцировать регуляцию PPRC1 через Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), что приводит к подавлению окислительного стресса и воспаления и увеличению продолжительности жизни [113].

Риск развития стеатоза печени неалкогольного генеза, с избыточным накоплением триглицеридов в печени, путем идентификации метаболитов, которые различаются в плазме пациентов со стеатозом печени по сравнению со здоровыми людьми (контрольная группа), оценивали Zhao M. с соавторами. Авторы стремились, используя метаболомные и протемные методы, исследовать механизмы, с помощью которых определенные маркеры могут способствовать жировому перерождению печени. Показано, что риск развития стеатоза печени связан с уровнем N,N,N-триметил-5-аминовалериановой кислоты (ТМАВА), который считается метаболитом кишечных бактерий *Enterococcus faecalis* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые метаболизируют триметиллизин в ТМАВА; обеспечивая более высокие уровни триметиллизина в плазме пациентов со стеатозом, чем в контрольной группе. При этом ТМАВА связывает и ингибирует γ -бутиробетаингидроксилазу, снижая синтез карнитина [141].

Предиабет (ПД) – это бессимптомное, в основном нераспознаваемое состояние, которым страдает более 35% населения в развитых странах. При некоторых формах этого состояния заметную роль играет избыточное потребление углеводов (в первую очередь рафинированного сахара). Помимо других исходов, ПД увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний. В работе [123] изучили влияние диеты, обогащенной фруктозой, на сердечную функцию, протеом и липидом сердечной мышцы у крыс Wistar. Липидомный и протеомный анализы на основе масс-спектрометрии, выполненные в образцах миокарда, показали сложную перестройку, сопровождавшую развитие ПД через 24 недели эксперимента. Модификация липидома происходила с особым акцентом на дефекты ремоделирования кардиолипина. Протеомный анализ показал значительные изменения в 75 сердечных белках в группе питания фруктозой, включая белки, связанные с митохондриями, апоптозом и окислительным стрессом. Результаты работы показывают, что употребление фруктозы вызывает заметные изменения в липидоме сердца, особенно в ремоделировании кардиолипина, что приводит к митохондриальной дисфункции и нарушению сердечной функции (в виде диастолической сердечной дисфункции). Результаты показали, что даже ранние стадии ПД могут нарушать сердечную функцию и

приводить к значительным изменениям в липидоме и протеоме сердца, еще до появления выраженных признаков окислительного стресса и повреждения клеток [90].

Диета, обогащенная полифенолами (в т.ч. из черники, ежевики, малины) способствует выживанию животных и защите сердечно-сосудистой системы от гипертензии, вызванной высоко-солевой диетой. Ежедневное потребление ягод повышало выживаемость чувствительных к соли крыс. Наблюдался профилактический эффект по предотвращению гипертрофии и дисфункции сердца, гипертрофии кардиомиоцитов. Введение в рацион ягод модулировало экспрессию аквапорины-1, канала, участвующего в проницаемости воды в эндотелии. Анализ протеомики тканей левого желудочка привел к идентификации мишеней для метаболитов, включая цистеин и богатый глицином белок 3 (CSRP3) – участвующий в цитоархитектонике миоцитов. В кардиомиоцитах желудочков крыс CSRP3 был подтвержден как мишень метаболита полифенола, полученного из ягод, 4-метилкатехолсульфата, в микромолярных концентрациях, имитирующих физиологические условия циркуляции в плазме человека. Сайленсинг siRNA CSRP3 и предварительная обработка сульфатом 4-метилкатехина, как эпигенетические механизмы подавления экспрессии генов, отменяли развитие гипертрофии кардиомиоцитов и сверхэкспрессию CSRP3, индуцированные фенилэфрином. Исследование четко подтверждает модуляцию CSRP3 с помощью богатой полифенолами ягодной диеты как эффективной кардиозащитной стратегии при сердечной недостаточности, вызванной гипертензией [96].

Все чаще описывается потенциально вредное воздействие диеты с высоким содержанием жиров на репродуктивную функцию у мужчин. Jarvis S. с коллегами изучали эффекты хронической диеты с высоким содержанием жиров (HF) (у мышей, получавших диету с содержанием жира 45% в течение 21 нед.) с изучением протеома тканей семенников. Масс-спектрометрия идентифицировала 102 дифференциально экспрессируемых белка в семенниках мышей в группе, получавшей диету HF, по сравнению с контролем. К ним относились структурные белки, компоненты гематотестикулярного барьера (филамин А, FLNA), протеины, участвующие в реакциях на окислительный стресс (ассоциированный со сперматогенезом белок-20, SPATA-20) и липидный гомеостаз (белок 2, связывающий регуляторный элемент стерола, SREBP2 и аполипопротеин А1, APOA1). Кроме того, был значительно подавлен важный регуляторный белок *paraspeckle component 1*, PSPC-1, который взаимодействует с рецептором андрогенов.

Вестерн-блот и иммунное окрашивание подтвердили специфичность ответа и локализацию экспрессии белков, как в яичках мыши, так и биопсийных образцов человека [54].

Недавние исследования свидетельствуют о том, что не только состав, но и функции ЛПВП могут регулироваться диетой. Grao-Cruces E. с коллегами на основе анализа результатов, представленных в четырех базах данных (PubMed, Scopus, Cochrane library и Web of Science) показали, что средиземноморская диета является защитным фактором против ССЗ, связанным с улучшением качества ЛПВП и предотвращением дисфункции ЛПВП, выраженной в улучшении способности оттока холестерина фракции ЛПВП и снижения ее окисления [39].

Липидомика и протеомика предоставили новые возможности исследователям для изучения эпигенетического контроля гиперлипидемии, как риск-фактора ССЗ, со стороны различных нутриентов. Так, исследование механизмов протективных свойств куркуминоидов у мышей C57BL/6J показало, что через 8 нед. кормления кормом с добавлением куркумы значительно снизились уровни TC, TG и LDL-C в плазме, а также соотношение LDL-C/HDL-C по сравнению с мышами, получавшими диету с высоким содержанием жиров. Протеомный анализ на основе ТМТ показал, что под действием куркуминоидов значительно изменялась экспрессия 24 белков в плазме и 76 белков в печени животных, соответственно. Анализ показал, что в плазме данные белки участвуют в каскадах комплемента и коагуляции, а также в пути метаболизма холестерина, а в печени – в метаболизме арахидоновой кислоты, биосинтезе стероидных гормонов и сигнальном пути PPAR. Таким образом, результаты показали, что куркума предотвращает гиперлипидемию за счет регуляции экспрессии белков в путях метаболизма [132].

К фундаментальным аспектам использования протеомики в физиологии относится работа Kortenoeven M.L.A. с соавторами, выполненная на экспериментальных моделях гиповолемии или гиперкалиемии у мышей. Протеом дистальных извитых канальцев почек (DCT) изучали в образцах почек животных после 4 дней их содержания на диетах, содержащих низкий уровень NaCl (гиповолемическое состояние) или высокий уровень цитрата калия (гиперкалиемическое состояние). Было показано, что в опосредовании дифференциальных ответов DCT на альдостерон участвуют 210 белков, экспрессия которых выражено менялась при гипо-солевой диете и 625 белков после диеты с высоким содержанием K⁺ [60].

Изменение экспрессии белков, отражающееся на протеоме сыворотки при остром и хроническом воздействии диеты с высоким содержанием липидов показано в ряде экспериментальных работ. Так, Gabuza K.B. с коллегами методами протеомики в сочетании с исследованиями межбелковых взаимодействий *in silico* изучали влияние диет с различным уровнем жиров и разной длительностью применения на дифференциально экспрессируемые белки у крыс. Показано, что для нескольких белков наблюдались различия в экспрессии между диетами с различным, но повышенным содержанием жиров, по сравнению с низко-жировым кормом. Аполипопротеин-AIV (APOA4), С-реактивный белок (CRP) и гликопротеин альфа-2-HS (AHSG) демонстрировали дифференциальную экспрессию как через 8, так и через 42 нед., тогда как макроглобулин альфа-1 (AMB1) дифференциально экспрессировался только через 8 нед. [33]. Таким образом, выявление потенциальных биомаркеров и путей, которые способствуют осложнениям, связанным с избыточным потреблением липидов, может помочь как в разработке схем персонализированной профилактики, так и выявить лиц с риском развития заболеваний, связанных с ожирением.

В данной главе обзора представлены результаты исследований, проведенных в последние годы, которые показывают, что нутриенты и биологически активные компоненты пищи прямо или опосредованно воздействуют на геном, транскриптом, протеом и метаболом, формируя, через эпигенетические механизмы, адаптивный фенотип.

Протеомика питания дает новое понимание сложных взаимодействий регуляции синтеза и процессинга белков и поддержания гомеостатических механизмов. Показано, что типичная западная диета (с высоким содержанием жиров и углеводов) нарушает когнитивные функции, и связана с белками, участвующими в коагуляции и метаболизме липидов, а также с предполагаемыми биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний, а средиземноморская — является защитным фактором против ССЗ, связанным с улучшением качества циркулирующих фракций холестерина (ЛПВП). Предполагается, что здоровая диета уменьшает повреждение сосудов за счет ослабления про-воспалительной активации. Так, куркума предотвращает гиперлипидемию за счет регуляции экспрессии белков в путях метаболизма, потребление горькой дыни значительно снижает окислительный стресс и экспрессию провоспалительных цитокинов, наряду с улучшением проницаемости гематоэнцефалического барьера, лечение зеленым чаем вызывало дифференциальные

изменения экспрессии 6 цитокинов (CINC-3, CTNF, MCP-1, MIP-3 α , TIMP-1 и TNF- α), а также подавление активности образования активных форм кислорода при усилении механизма антиоксидантной защиты, что эффективно в защите от апоптоза. Употребление фруктозы вызывает заметные изменения в липидоме тканей сердца, особенно в ремоделировании кардиолипина. Последнее приводит к митохондриальной дисфункции и, на тактовом уровне, нарушению функции сердца в виде диастолической дисфункции. Введение в рацион ягод модулирует экспрессию аквапорина-1, канала, регулирующего проницаемость воды в полярном эпителии почек и эндотелии сосудов.

Изменение экспрессии белков, отражающееся на протеоме сыворотки крови при остром и хроническом воздействии диеты с высоким содержанием липидов показано в ряде экспериментальных работ. Так, при высоком содержании жиров в диете активируются воспалительные маркеры мембраносвязанных белков A3 (ANXA3) и A5 (ANXA5).

Все чаще отмечается потенциально вредное воздействие диеты с высоким содержанием жиров на репродуктивную функцию у мужчин. Уровень лептина отражает различные изменения метаболизма у мужчин и женщин и служит полезным маркером для выявления ранних изменений в энергетическом и гормональном метаболизме.

Использование протеомики при исследовании влияния диеты на функциональное состояние различных систем организма не только предоставляет возможность показать потенциальные молекулярные механизмы доклинических и патологических состояний, но и предложить профилактические меры, а также методы по оценке их эффективности.

ВЛИЯНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Один из важных вопросов в области исследования влияния двигательной активности на организм человека заключается в том, каким образом физические упражнения обеспечивают положительный эффект и гарантируют стабильное поддержание здоровья. Принимая во внимание, что высокоинтенсивные упражнения не соответствуют здоровому образу жизни, многие исследования сосредоточены на изучении упражнений средней интенсивности, в пределах границ указанных в разработанных рекомендациях [37]. При этом большое число работ посвящено исследованию влияния ограничения физической активности, гиподинамии, на организм человека, в частности выявлению связи образа жизни с риском

развития какого-либо заболевания. Известно, что отсутствие физической активности имеет существенные неблагоприятные последствия для человеческого организма. Гиподинамия приводит к увеличению проявлений окислительного стресса, активизации провоспалительных процессов, развитию подкожного и висцерального ожирения, повышению кровяного давления, развитию сахарного диабета 2 типа, ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности [30].

В то же время, физическая активность, в том числе структурированные упражнения, приносит значительную пользу для здоровья, включая улучшение когнитивных функций [104], снижение частоты сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [103] и снижение показателей смертности от них [64]. Поэтому регулярные физические упражнения занимают центральное место в рекомендациях по укреплению сердечно-сосудистого и неврологического здоровья [102, 103]. Польза физических упражнений для сердечно-сосудистой системы объясняется улучшением липидного профиля крови, нормализацией артериального давления, повышением чувствительности к инсулину, а также снижением воспалительных реакций, но значительная часть наблюдаемой пользы остается необъяснимой с точки зрения механизмов снижения факторов риска. Исследования сердечно-сосудистой адаптации и ее потенцирования с помощью физических упражнений получили широкое распространение из-за высокой стоимости медицинского обслуживания больных ССЗ и роста числа летальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний в популяции.

Чтобы понять молекулярные механизмы физиологической адаптации, вызванной мышечной деятельностью, исследователи обратились к протеомному анализу, исследуя изменения белкового состава крови и биоптатов мышц при выполнении упражнений. Такой подход оказался важным шагом на пути к пониманию молекулярных механизмов, лежащих в основе модуляции фенотипа через эпигенетическую регуляцию экспрессии генов, а также внутренних и внешних стимулов, вызываемых упражнениями, которые инициируют молекулярную передачу сигналов.

Экспериментальные исследования на лабораторных животных выявили широкий спектр белков, включая функциональные группы метаболических, сократительных, сигнальных и связанных со стрессом белков, которые регулируются упражнениями различной интенсивности [58, 121]. В том числе, эти исследования выявили специфические белки, присущие регуляции сокращения миокарда, а также те, которые повышают устойчивость сердца к стрессу [58, 121]. Показано, что физиче-

ская активность вызывает сложные молекулярные реакции, включая изменения уровней маркеров острого воспаления (например, интерлейкина-6) [29] и метаболических путей (гликолиза и окисления жирных кислот).

В физиологических исследованиях с участием здоровых добровольцев наиболее удобным источником белков для анализа служит плазма крови. Использование, при исследовании белков плазмы, панорамного подхода в протеомике на основе масс-спектрометрии открыло путь к получению новых результатов. Robbins J.M. et al. провели исследование 5000 белков плазмы, используя платформу SOMAscan, основанную на аптамерах, у более чем 650 взрослых лиц, ведущих малоподвижный образ жизни, до и после 20-недельного периода тренировок на выносливость [107]. При анализе взаимосвязи изменившихся после физической нагрузки белков с изменением уровня максимального потребления кислорода (ΔVO_{2max}), который является прямым показателем изменения физической работоспособности человека, выявлено 102 белка. Белки с наиболее сильными ассоциациями с ΔVO_{2max} включали: 5'-нуклеотидазу (NT5E), белок клеточной поверхности, который гидролизует внеклеточные нуклеотиды в проникаемые через мембрану нуклеозиды. Редкий аллельный вариант NT5E ассоциирован с преждевременной кальцификацией артерий, указывая на важную роль белка NT5E в функционировании сосудов [118]; IL-22-связывающий белок (IL22RA2), растворимый рецептор, лиганд которого участвует в гомеостазе инсулина и глюкозы [45]; и фибромодулин (FMOD), секреторируемый белок, участвующий в восстановлении тканей и миогенной регуляции посредством взаимодействия с миостатином [68]. Данные результаты могут указать на важных участников ответа организма и предложить гипотезы о молекулярных механизмах действия физических упражнений на организм человека.

Santos-Parker J.R. с коллегами провели исследование протеома плазмы (методом SOMAscan; выявлено 1129 белков) здоровых молодых женщин, ведущих малоподвижный образ жизни или занимающихся аэробными упражнениями, а также здоровых молодых и пожилых мужчин ($n = 47$). Авторами охарактеризовано 10 различных протеомных модулей (паттернов) плазмы, в том числе 5 паттернов, которые предложено считать специфичными для статуса физической нагрузки [110]. Зависимые от физических упражнений протеомные паттерны были связаны с молекулярными путями, участвующими в заживлении ран, регуляции апоптоза, передаче сигналов глюкозы—инсулина и клеточного стресса, а также в реакциях

воспаления/иммунитета. Также была выявлена связь паттернов с физиологическими и клиническими показателями продолжительности жизни, а также диастолического кровяного давления, резистентности к инсулину, максимальной аэробной способности и функции эндотелия сосудов.

При оценке влияния интенсивных упражнений на пептидом плазмы выявлены пептиды, остро реагирующие на упражнения и, в основном, так же быстро реагирующие на их завершение. Среди группы регулируемых пептидов многие были известными гормонами, включая инсулин, глюкагон, грелин, брадикинин, холецистокинин и секретогранины, подтверждающие достоверность метода. Однако, были выявлены и новые пептиды, которых ранее не были известны в контексте участия в ответе на физические нагрузки. Так, Parker B.L. et al. показано увеличение в плазме человека уровня С-концевых пептидов трансгелинов во время физической нагрузки [100]. Эксперименты *in vitro* с использованием синтетических пептидов выявили роль трансгелиновых пептидов в регуляции клеточного цикла, ремоделировании внеклеточного матрикса и миграции клеток.

Contrepois K. при изучении транскриптома (16000 анализов), протеома (260 нецелевых и 109 целевых белков, которые были выбраны с учетом их значимости для физиологии упражнений, включая метаболические, сердечно-сосудистые и иммунные белки), липидома (710 липидов) и метаболома (728 метаболитов) крови человека, как многоуровневого молекулярного ответа на острую физическую нагрузку показано, что физические нагрузки вызвали обширные изменения в 56.9% анализов, охватывающих все омические слои, что указывает на комплексные изменения на системном уровне [17]. Различные паттерны изменений наблюдались для разных типов молекул; транскрипты мононуклеаров периферической крови (57.6% от общего количества транскриптов) продемонстрировали очень быстрый ответ, достигая максимального/минимального уровня сразу после тренировки и возвращаясь к исходному уровню в течение 60 мин, тогда как белки (1.9% нецелевых, 40.4% целевых), метаболиты (60.7%) и сложные липиды (67.6%) изменялись в течение всех временных точек и их большая часть оставались значительно измененными на 60-й минуте восстановления. Авторами было выделено 4 кластера исследованных параметров. Компоненты 1 кластера увеличились после тренировки и быстро вернулись к исходному уровню, компоненты 2 кластера показали отсроченное увеличение после тренировки, прежде чем вернуться к исходному уровню. Остальные ана-

литы уменьшались в ответ на нагрузку, при этом некоторые возвращались к исходному уровню в течение одного часа (кластер 3), а другие продолжали снижаться в процессе восстановления (кластер 4). Для каждого кластера были созданы корреляционные сети, выявляющие потенциальные регуляторы биологических процессов.

Кластер 1 был обогащен молекулами ($n = 196$), связанными с анаэробным метаболизмом (лактат, пируват и промежуточные продукты цикла трикарбоновых кислот (ТСА)), иммунным ответом (провоспалительные факторы: интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- α)), и противовоспалительные: IL-1RA и фактор роста эндотелия сосудов D (VEGF-D), окислительным стрессом (миелопероксидаза), окислением жирных кислот и сложным метаболизмом липидов.

Молекулы в кластере 2 ($n = 148$) демонстрировали отсроченное увеличение после тренировки, и большая часть этих молекул была связана с углеводным обменом, гормонами, включая стероиды и гормоны щитовидной железы, кортикостероиды для восстановления гомеостатического баланса; увеличение факторов свертывания крови и гемостаза (фактор фон Виллебранда (vWF) и дезинтегрин А) и металлопротеаза с повторами 13 мотива тромбоспондина (ADAMTS-13), вероятно, в ответ на напряжение сдвига, вызванное упражнениями на беговой дорожке.

Кластер 3 содержал молекулы ($n = 168$), количество которых уменьшилось в ответ на нагрузку и вернулось к исходному уровню в течение 1 ч. В данном кластере корреляционная сеть имела хабы с центром в двух метаболических гормонах — лептине и грелине, что предполагает их роль в регуляции аппетита с помощью физических упражнений.

Молекулы в кластере 4 ($n = 171$) представляли собой в основном аминокислоты и различные виды триацилглицеролов, отражающих гидролиз с высвобождением жирных кислот, необходимых для производства энергии [17].

Таким образом, в ответ на физическую нагрузку изменяется циркулирующий протеом, липидом, метаболом, транскриптом, что отражает сложную сеть физиологических процессов, поддерживающих гомеостаз, и может дать представление о молекулярных механизмах влияния физической активности на здоровье.

Многие исследователи стремятся изучить не только влияние упражнений, но и их интенсивности на протеом плазмы человека. С помощью протеомного метода на основе аптамеров для исследования 1305 белков плазмы у 12 участников до и после тренировки при двух уровнях интен-

сивности (умеренной и высокой) показано, что протеом плазмы человека реагирует на упражнения в зависимости от их интенсивности. Упражнения средней и высокой интенсивности вызвали разные сигнальные реакции, в которых задействованы белки плазмы и, похоже, что динамика белков плазмы может отражать некоторые положительные и отрицательные эффекты физической нагрузки [40].

Два хорошо известных эффекта физических упражнений включают их способность предотвращать остеопороз [88] и улучшать липидный профиль крови [61]. При упражнениях умеренной интенсивности протеомный анализ плазмы позволил выявить два основных обогащенных пути, которые связаны со стимулированием роста костей и усилением липофагии, которая касается деградации и метаболизма липидов [40]. Также биоинформатический анализ показал наличие высокопредставленных процессов, относящихся к воспалительной реакции, включая хемотаксис нейтрофилов, гранулоцитов и моноцитов и миграцию воспалительных клеток. В целом, протеомные изменения, вызванные физическими упражнениями, согласуются с их клинически наблюдаемыми эффектами, что позволяет предположить, что эти пути могут быть одним из механизмов, посредством которых упражнения умеренной интенсивности при их регулярном использовании как меры профилактики с течением времени могут действовать для проявления своего потенциала воздействия, в данном случае для улучшения здоровья костей и снижения метаболического риска, связанного с гиперлипидемией.

При высокой интенсивности физической нагрузки наиболее представленные процессы были связаны с неврологическими путями, включая Wnt-сигнальный путь и аксоногенез нейронов (коллатеральное разрастание) [40], что согласуется с клиническими наблюдениями, связывающими аэробные упражнения с нейрогенезом и синаптической пластичностью [128]. Показано повышение мозгового нейротрофического фактора (BDNF) при умеренной нагрузке, а при интенсивной физической нагрузке его концентрация возрастает еще на 30% [40]. Аналогичный результат был получен в работе [124], где было выявлено изменение уровня BDNF при острых и регулярных физических упражнениях. Авторами было высказано предположение, что BDNF опосредует улучшение когнитивных функций и повышение настроения, наблюдаемые при физических упражнениях. Эти результаты особенно важны, учитывая растущую распространенность деменции, отсутствие эффективных методов лечения и

связь между малоподвижным образом жизни и потерей памяти [28]. Другие молекулярные пути, обогащенные при выполнении высокоинтенсивных упражнений, включали образование свободных радикалов, про-воспалительную активацию (миграцию моноцитов, продукцию цитокинов Т-клетками) и миграцию гладкомышечных клеток сосудов [40], указывая, что высокоинтенсивные упражнения могут иметь негативный эффект на организм человека.

Prakash R.S. et al. указывают, что физические упражнения, как правило, полезны для всех аспектов здоровья человека, замедляя когнитивное старение и нейродегенерацию [104]. Физическая активность связана с повышенной пластичностью и уменьшением воспаления в гиппокампе [46], однако мало что известно о факторах и механизмах, которые опосредуют эти эффекты. Показано, что плазма крови, собранная у добровольно бегающих мышей и введенная малоподвижным мышам, снижает базальный уровень экспрессии нейровоспалительных генов и экспериментально индуцированное воспаление мозга. Протеомный анализ плазмы выявил согласованное увеличение ингибиторов каскада комплемента, включая кластерин (CLU) [23]. В этом же исследовании показано, что внутривенно введенный CLU связывается с эндотелиальными клетками головного мозга и снижает экспрессию нейровоспалительных генов в мышечной модели острого воспаления головного мозга и экспериментальной модели болезни Альцгеймера. Данные результаты находят подтверждение в исследовании на человеке. У пациентов с когнитивными нарушениями, которые занимались структурированными упражнениями в течение 6 месяцев, уровень CLU в плазме был выше [23]. Эти результаты демонстрируют генерацию физическими упражнениями противовоспалительных факторов, нацеленных на сосуды головного мозга и благотворно влияющих на его структуры. Еще одно исследование механизмов положительного влияния физических упражнений на мозг провели Moon H.Y. et al. С помощью протеомного анализа они показали, что мышечный секреторный фактор, белок катепсин В (CTSB), важный для когнитивных и нейрогенных функций, при аэробной нагрузке определяется в биоптате икроножной мышцы и плазме мышечной. В свою очередь, применение рекомбинантного CTSB усиливало экспрессию нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) и даблкортина (DCX) во взрослых клетках-предшественниках гиппокампа. В подтверждение результатов показано, что *in vivo* у мышей с нокаутом гена CTSB бег не усиливал нейрогенез гиппокампа и функцию пространственной памяти. Интересно, что и

у макак-резусов, и у людей упражнения на беговой дорожке также повышали уровень CTSB в плазме. У людей изменения уровня CTSB коррелировали с физической подготовкой и функцией памяти, зависящей от гиппокампа. В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что CTSB является медиатором воздействия физических упражнений на когнитивные функции [87].

Lind L., Elmstahl S. et al. и другими исследовательскими группами, с использованием методов протеомики, опубликованы результаты исследования молекулярных механизмов развития неблагоприятных последствий гиподинамии. В двух крупных когортах, а именно: “Эпидемиология здоровья” (EpiHealth, 2239 мужчин и женщин) [71] и “Шведская клиническая когорта маммографии” (SMCC, 4320 женщин) [43], были проведены исследования, которые были направлены на изучение роли образа жизни в патогенезе распространенных заболеваний у женщин. В обеих когортах выявлены схожие результаты [62]: так, при гиподинамии идентифицированные биомаркеры указывают на различные атеросклеротические процессы, включая окисление липопротеинов низкой плотности, деградацию белков, адгезию иммунных клеток и их миграцию [119]. Однако при корректировке результатов анализа на процентное содержание жира в организме, только 4 из этих биомаркеров повторялись в обеих когортах (включая белок, связывающий жирные кислоты 4 (FABP4), цистатин В (CSTB), параоксоназа 3 (PON3) и антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL1ra)). Связь низкой физической активности с белком FABP4 предполагает сверхэкспрессию FABP4 в адипоцитах и макрофагах, что способствует развитию инсулинорезистентности и атеросклероза [32]. В целом, данные маркеры имеют значимое влияние на функционирование сосудов и их внутреннюю оболочку – эндотелий, который является регуляторным звеном и при этом подвержен различным влияниям со стороны компонентов крови. Именно баланс в регуляторной деятельности эндотелия поддерживает адекватные функции сосудов, но сдвиг баланса в одну или другую сторону чреват развитием дисфункции эндотелия, которая является начальным звеном в цепочке событий нарушения функционирования сердечно-сосудистой системы.

Существуют различные модели, используемые в экспериментах с участием здоровых лиц, симулирующие в том числе и гиподинамию, такие как антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) и “сухая” иммерсия. Если антиортостатическая гипокинезия представляет собой постельный режим с небольшим углом наклона головного конца постели, то “сухая” иммерсия представляет собой

модель полной разгрузки мышц, в том числе опорных, и в этой модели эффекты гиподинамии достигаются быстрее, чем в АНОГ [114]. В доступной литературе имеется небольшое число работ по исследованию эффектов этих моделей на протеом плазмы. При исследовании 21-суточной антиортостатической гипокинезии к концу эксперимента были выявлены достоверные изменения уровня белков, участвующих в регуляции протеолиза, активации комплемента, острой воспалительной реакции, защитной реакции, реакции на стресс, фибринолизе, свертывании крови [57]. В эксперименте с 21-суточной “сухой” иммерсией были выявлены изменения уровней плазминогена, фибронектина, других факторов свертывания и фибринолиза, активация системы комплемента, изменения в коагуляционном каскаде, которые коррелировали с появлением геморрагической пурпуры к концу эксперимента, указывая на нарушение целостности сосудов, на фоне декомпенсированной сердечно-сосудистой системы [101]. При сравнении образцов плазмы крови, полученных от добровольцев, участвующих в 21-суточной антиортостатической гипокинезии и в сухой иммерсии, выявлено девять общих белков (A1BG, A2M, SERPINA1, SERPINA3, SERPING1, SERPINC1, HP, CFB, TF), которые изменили свои уровни в обоих наземных экспериментах. Общие процессы, такие как дегрануляция тромбоцитов, гемостаз, посттрансляционное фосфорилирование белка и процессы метаболизма белка, указывают на вовлеченность данных процессов при разгрузке мышц, характерной для гиподинамии в модельных экспериментах [12].

Таким образом, физическая активность оказывает благотворный эффект на здоровье человека, и этот эффект выявляется на протяжении всей жизни и сохраняется длительное время. Изменения в белках плазмы после умеренных физических упражнений могут использоваться в качестве биомаркеров здоровья, а также могут играть важную роль в повышении работоспособности сердечно-сосудистой системы, потенцировании иммунной компетентности, предотвращении ожирения, снижении риска неврологических расстройств, инсульта, диабета и нарушений обмена веществ. Исследователи по всему миру с помощью технологий ОМИК идентифицируют большое число плазменных белков, метаболитов, липидов и других молекул, которые тем или иным способом связаны с физической нагрузкой, выделяя различные профили, характерные для адаптации к уровню физических нагрузок разной интенсивности, а также выявляют протеомные паттерны недостатка физической нагрузки. Дальнейший анализ этих данных должен дать

важную информацию по источникам этих белков и метаболитов, а также по их функциональному значению.

В целом, как показано, физические упражнения затрагивают все омические слои плазмы, что значительно затрудняет понимание механизмов влияния. Нам еще предстоит научиться “читать” изменения в плазме, чтобы собрать целостную картину модификаций молекулярных путей при действии физических нагрузок. Кроме того, важность работ данного направления подчеркивается тем, что в любом исследовании других интересующих факторов возникает необходимость учитывать уровень двигательной активности, который, по-видимому, вносит огромный вклад в изменения протеомных и метаболомных составляющих крови.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОТЕОМА

Существуют объективные и до сих пор не преодоленные трудности в интерпретации результатов исследования протеома жидкостей тела человека, в определенной степени сдерживающие широкое использование технологий протеомики в клинической медицине и в нормальной физиологии. Их можно условно разделить на следующие категории. 1. Индивидуальная (“продольная”) вариабельность протеома крови и мочи. 2. Групповая (межиндивидуальная) вариабельность. 3. Аналитическая вариабельность.

Индивидуальная вариабельность

Считается, что индивидуальная (“продольная”, изменчивость у индивидуума во времени) вариабельность белкового состава крови при изучении методами протеомики на основе масс-спектрометрии составляет около 25% [18]. По данным Трифионовой О.П. [5] индивидуальная вариабельность белкового состава крови здоровых добровольцев в контролируемых условиях, исследованная на протяжении 3 недель, составила $22 \pm 13\%$ [5]. Сообщается, что “продольная” вариабельность белкового состава мочи при масс-спектрометрическом исследовании намного выше вариабельности крови и составляет 45%, а по некоторым данным достигает 58% [2, 89]. По нашим результатам, полученным при исследовании здоровых добровольцев в контролируемых условиях потребления основных питательных веществ, жидкости, двигательной активности, состава атмосферы в замкнутом объекте – при разнице между наблюдениями, составляющей всего неделю, численный состав белков в моче может сильно варьировать [66]. При исследовании проб

мочи 30.7% из числа выявляемых прямым профилированием пиков у здорового человека имеют высокую “продольную” вариабельность на протяжении времени обследования в 3 месяца [1]. Продольная вариабельность составляет большую проблему для широкого применения ОМИКсных методов при исследовании не только белков, но также метаболитов и липидов. Исследователи подчеркивают, в этой связи, что очень важно измерять липидные биомаркеры с высокой воспроизводимостью, чтобы избежать необъективности заключений, которые делаются на основе этих результатов. Поэтому исследование межсуточной вариабельности является крайне актуальной задачей. При исследовании межсуточной вариабельности 1000 видов липидов в плазме и эритроцитах (на 42 людях) выявлено, что в плазме вариабельность была достаточно низкой – воспроизводилось хорошо 78% липидов, тогда как в эритроцитах вариабельность была очень высокой – хорошо воспроизводилось всего 37% липидов. Наиболее высокой воспроизводимостью в плазме была для таких классов липидов, как триацилглицерины и эфиры холестерина. Однако в эритроцитах показали лучшую воспроизводимостью церамиды, диацилглицерины, (лизо)фосфатидилэтаноламины и сфингомиелины [75].

Аналитическая вариабельность

Исследование протеома биологических жидкостей тела дает возможность более глубокого понимания нормальной физиологии, а также патофизиологии заболеваний. Протеомные исследования важны для открытия новых биомаркеров в качестве клинических инструментов для диагностики, мониторинга терапии и прогноза развития заболеваний. Плазма является потенциально богатым источником белковых биомаркеров прогрессирования заболевания и ответа на лекарственные средства. Часто, чтобы увеличить количество анализируемых образцов в исследовании, проводятся крупные многоцентровые исследования. Это может увеличить вероятность различий в методах обработки, хранения и подготовки крови к анализу, что приведет к изменению протеомных результатов. Такие меж-лабораторные различия лежат в основе аналитической вариабельности. Несоответствия в сборе и обработке образцов крови могут оказать значительное влияние на уровни метаболитов, пептидов и, к примеру, белковых биомаркеров воспаления в крови. Преаналитические различия, вызванные отличиями в протоколах обработки образцов, создают проблемы для оценки надежности биомаркеров и сопоставимости между результатами исследований

разных лабораторий. Таким образом, контроль качества образцов имеет решающее значение для успешной идентификации и проверки биомаркеров, а также для получения достоверных результатов при исследовании нормальной физиологии и ответа физиологических механизмов на различные воздействия. Поэтому одной из актуальных задач в протеомике является оценка влияния вариаций в методах обработки крови на результаты протеомного анализа плазмы с использованием ЖХ-МС/МС. В работе Halvey P. et al. [41] изучали влияние различных условий центрифугирования, продолжительности задержки до первого центрифугирования, температуры хранения и типа антикоагулянта на результаты масс-спектрометрического анализа. Результаты анализа крови здоровых доноров не продемонстрировали значительного влияния условий центрифугирования на изменение протеома плазмы. Задержка до первого центрифугирования оказала большее влияние на изменчивость, в то время как температура хранения и антикоагулянт показали менее выраженные, но все же значительные эффекты. Таким образом, авторами показано, что вариабельность процедур обработки крови (на до-аналитическом этапе) вносит значительный вклад в изменчивость результатов исследования протеома плазмы, что может приводить к повышению уровня внутриклеточных белков в плазме в результате гемолиза и разрушения других клеток крови. Учет этих эффектов может быть важен как на этапе планирования исследования, так и на этапах анализа данных. Это понимание будет полезно при планировании работ по поиску белковых биомаркеров в будущем. Более подробное исследование влияния различных преаналитических методов проведено в работе [19]. Цельная кровь, полученная от 16 практически здоровых людей, была собрана в шесть пробирок с ЭДТА и обработана в шести разных преаналитических условиях, включая хранение крови до центрифугирования при 0°C или при комнатной температуре (RT) в течение 6 часов (B6h0C или B6hRT), хранение плазмы при 4°C или RT в течение 24 ч (P24h4C или P24hRT), маленькое число оборотов при центрифугировании во время отделения плазмы 1300 g (Low × g) и немедленная обработка в плазму при 2500 g (контроль) с последующим хранением плазмы при -80°C. Протеомный анализ на основе аптамеров был проведен для выявления значительно измененных белков (кратность изменения ≥ 1.2 , $P < 0.05$) по сравнению с контролем из общего количества проанализированных 1305 белков. Предварительно аналитические условия Low × g и B6h0C привели к наибольшим изменениям протеома плазмы со значительными из-

менениями 200 и 148 белков соответственно. Только 36 белков были изменены при B6hRT. Условия P24h4C и P24hRT приводили к замене 28 и 75 белков соответственно. Систему компонента активировали *in vitro* в условиях B6hRT, P24h4C и P24hRT. Результаты показывают, что для клинического измерения конкретных биомаркеров следует контролировать определенные преаналитические переменные, если по каким-либо причинам невозможно контролировать их все. Аналогичный анализ влияния нескольких условий преаналитической обработки, включая различное время и температуру хранения образцов крови или плазмы и различные скорости центрифугирования на уровни метаболитов, пептидов и биомаркеров воспаления в образцах плазмы человека проведен в исследовании [14]. Было обнаружено, что температура является основным фактором изменчивости результатов определения метаболитов, а время и температура были идентифицированы как критические факторы изменчивости результатов исследования пептидов. Для биомаркеров воспаления температура играла различную роль в зависимости от типа образца (кровь или плазма). Низкая температура влияла на биомаркеры воспаления в крови, тогда как комнатная температура влияла на биомаркеры воспаления в плазме.

Аналогичное исследование [53] по изучению влияния отсроченного центрифугирования на определяемый уровень белков проведено с использованием плазмы и спинномозговой жидкости (ЦСЖ). Кровь здоровых лиц и больных рассеянным склерозом вместе с ЦСЖ больных с подозрением на неврологические расстройства перед центрифугированием оставляли при комнатной температуре на разное время (кровь: 1, 24, 48, 72 ч; ЦСЖ: 1 и 6 ч). Девяносто один белок, ассоциированный с воспалением, был проанализирован с использованием высокочувствительного мультиплексного иммуноанализа. В спинномозговой жидкости также были исследованы дополнительные метаболические и неврологические маркеры. В результате исследования выявлено, что многие белки, особенно в плазме, имели повышенные уровни в вариантах преаналитической подготовки с более длительными задержками процессинга, вероятно, частично из-за утечки внутриклеточных белков. Уровни каспазы 8, интерлейкина 8, интерлейкина 18, сиртуина 2 и сульфотрансферазы 1A1 увеличивались в 2–10 раз в плазме через 24 ч при комнатной температуре. Точно так же уровни катепсина Н, эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазы 5 и домена WW, содержащего убиквитинпротеинлигазу E3 2, дифференцировались в ЦСЖ с задержкой процессинга <6 ч. Однако ско-

рость изменений для многих белков была относительно постоянной; поэтому авторы смогли охарактеризовать биомаркеры для выявления различий преаналитического этапа. Эти результаты подчеркивают важность своевременного сбора образцов и необходимость повышения осведомленности исследователей о подверженности белков к изменениям в преаналитическом этапе обработки образцов. Кроме того, предлагаемые биомаркеры могут использоваться в определенных ситуациях для выявления и коррекции преаналитических вариаций в будущих исследованиях.

В целом, артефакты, возникающие в результате различий в преаналитической подготовке образцов плазмы или сыворотки, могут искажать результаты исследований и выделять ложные белки-кандидаты в биомаркеры, которые в последующем пройдут на этапы дорогостоящей валидации и верификации. Исследователи [36] получили глубокие эталонные протеомы эритроцитов, тромбоцитов, плазмы и цельной крови 20 человек (>6000 белков) и сравнили протеомы сыворотки и плазмы. На основе этих результатов была проведена оценка образцов плазмы и определение вероятности того, что предлагаемые биомаркеры являются артефактами, связанными с обработкой образцов. В работе [36] представлен онлайн-ресурс (www.plasmaproteomeprofiling.org) для оценки общей систематической ошибки при подготовке образцов и рекомендации по подготовке образцов, что поможет исследователям избежать получения неверных результатов исследования и приблизит к пониманию процессов, протекающих в организме.

Количественная протеомика позволяет обнаруживать и проводить функциональное исследование преддиагностических биомаркеров на основе крови для раннего выявления различных болезней. Однако основным ограничением протеомных исследований при обнаружении биомаркеров остается техническая вариабельность результатов анализа сложных клинических образцов. Более того, в отличие от других ОМИКсных наук, таких как геномика и транскриптомика, протеомике еще предстоит достичь воспроизводимости и долгосрочной стабильности на единой технологической платформе. В нескольких исследованиях тщательно изучалась вариабельность белков, идентифицированных на разных технологических платформах, в преддиагностических образцах онкологических больных. Так, на десяти образцах плазмы крови, собранных за 2 года до постановки диагноза рака молочной железы, тремя разными методами измерения уровня белков (масс-спектрометрия и технологии на основе антител) выявлено 32 белка со статистиче-

ски значимо ($p < 0.01$) измененными уровнями экспрессии между вышеописанными случаями и контролем (здоровыми людьми), при этом ни один из белков не сохранил статистическую значимость после коррекции ложного обнаружения [140]. Т.е. необходимо учитывать особенности дизайна исследования в ограниченных преддиагностических выборках больных. В более широком плане, необходимо унифицировать технологическую платформу исследования белкового состава образцов, что позволит получать более стабильные и воспроизводимые результаты.

Групповая (межиндивидуальная) вариабельность

Как уже было отмечено, изучение протеома плазмы человека важно для понимания многих биологических процессов. В то же время протеом является мишенью для диагностики и терапии. Поэтому представляет большой интерес понимание взаимодействия генетических факторов и факторов окружающей среды для определения конкретных уровней белка у людей. Это даст более глубокое представление о роли генетической архитектуры в индивидуальной изменчивости уровней белков в плазме.

Чтобы выявить взаимосвязь генетических факторов и протеома, было проведено комплексное исследование, объединившее секвенирование всего генома, мультиплексное профилирование белков плазмы и обширное клиническое фенотипирование в продольном двухлетнем исследовании состояния здоровья 101 здорового человека с повторным отбором проб [142]. Были проведены анализы генетических и негенетических ассоциаций, связанных с вариабельностью уровня белков в крови у этих лиц. Анализ показал, что каждый человек имеет уникальный белковый профиль с межиндивидуальными вариациями для 794 белков плазмы. Полногеномное секвенирование выявило 144 независимых варианта генов 107 белков, которые показали сильную связь ($P < 6 \times 10^{-11}$) между генетикой и межиндивидуальной изменчивостью уровня белка. Лонгитюдный анализ также показал, что эти уровни стабильны в течение двухлетнего периода исследования. Таким образом, уровни многих белков в крови взрослых здоровых людей определяются генетикой при рождении, что важно для понимания взаимосвязи между профилями протеома плазмы, биологией и болезнями человека.

Еще один пример изучения межиндивидуальной вариабельности рассмотрен в статье [94], где тиоловые белки плазмы из семейства протеиндисульфидизомеразы (PDI), связанные с окислительно-восстановительным потенциалом, явля-

ются кандидатами-репортерами белковых сигнатур крови, оказывающих влияние на структуру и функции эндотелия. В данной работе исследовали возникновение и физиологическое значение циркулирующего пула PDI у здоровых людей. Выявлена высокая межиндивидуальная вариабельность данного белка, но низкая индивидуальная вариабельность с течением времени и при повторных измерениях. Примечательно, что уровни PDI в плазме могут различать различные сигнатуры протеома плазмы, при этом богатая PDI плазма сопровождается повышенной концентрацией белков, связанных с клеточной дифференцировкой, процессингом белков, функциями домашнего хозяйства и другими, в то время как плазма с низким содержанием PDI дифференциально отображает белки, связанные с коагуляцией, воспалительными реакциями и иммуноактивацией. Функция тромбоцитов была одинаковой у людей с богатой PDI и бедной PDI плазмой. При этом, данные белковые сигнатуры тесно коррелировали с эндотелиальным фенотипом и функциональным ответом клеток эндотелия при культивации с PDI-бедной или PDI-богатой плазмой. Так, плазма с низким содержанием PDI способствовала нарушению адгезии эндотелия к фибронектину, нарушению миграции и уменьшению зоны восстановления раны. Пациенты с сердечно-сосудистыми событиями имели более низкие уровни PDI по сравнению со здоровыми людьми.

Хотя белки плазмы играют важную роль в биологических процессах и являются прямыми мишенями для многих лекарств, генетические факторы, которые контролируют индивидуальные различия в уровнях белков плазмы, изучены недостаточно. При исследовании генетической архитектуры протеома плазмы человека у здоровых доноров крови определено 1927 генетических ассоциаций с 1478 белками [122]. При построении связи генетических факторов с заболеваниями через определенные белки выявлены потенциальные терапевтические мишени, возможности сопоставления существующих лекарств с лечением новых заболеваний и потенциальные проблемы безопасности разрабатываемых лекарств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство исследователей, пришедших к использованию протеомики в науках о жизни, согласны, что обсервационные клинико-биохимические исследования не помогают определить причинно-следственные связи. С помощью ОМИК-технологий идентифицируют большое число белков, метаболитов, липидов и других мо-

лекул, которые связаны с изучением динамики состава и уровня биомолекул в здоровом организме, а также их изменений в зависимости от диеты, физической нагрузки, увеличения возраста человека. Часть из этих молекул определяет естественную вариабельность уровня белков, липидов и метаболитов как между индивидуумами, так и во времени, а также влияние факторов среды, определяющих макроскопическое окружение организма.

Поэтому основная роль новых данных ОМИК-технологий в том числе — протеомики, заключается в том, что их результаты способствуют генерации гипотез [73]. В обзоре раскрываются вопросы возраст-зависимых изменений состава биологических молекул и метаболитов, влияния двигательной активности и характера диеты на протеом, в основном, биологических жидкостей организма, а также вариабельности их состава у здорового человека. ОМИКи дают ценную информацию о существующих механизмах болезней, связанных со старением, и их возрастной динамике. Протеомика питания, которая определяется как изучение влияния пищевых ингредиентов на регуляцию экспрессии белка, дает новое понимание сложных взаимодействий регуляции синтеза и процессинга белков и улучшает наше понимание механизмов влияния диеты на многие системы организма.

Изменения в белковом составе плазмы крови после умеренных физических нагрузок могут использоваться в качестве биомаркеров *здоровья* (реакции, характерной для здорового организма) в различных возрастных группах.

Адекватный дизайн исследований, постановка цели и выбор биоинформатических инструментов анализа массивов данных, которые исследователь получает в протеомике, метаболомике, липидомике — являются залогом успешного решения задач в физиологии человека. Протеомные и метаболомные исследования помогают построить сети молекулярных взаимодействий, включая меж-белковые и гено-белковые, определить их характер для того, чтобы предложить путь для терапевтических вмешательств и управления медицинскими рисками, связанными со старением человека и сопряженными с возрастом заболеваниями, снижением двигательной активности, метаболическими нарушениями доклинического характера.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа была выполнена в рамках базовой тематики РАН 65.3.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Валеева О.А., Пастушкова Л.Х., Пахарукова Н.А., Доброхотов И.В., Ларина И.М. Вариабельность протеома мочи здорового человека в эксперименте с 105 суточной изоляцией в гермообъекте // Физиол. чел. 2011. Т. 37(3). С. 351–354. <https://doi.org/10.1134/s0362119711030157>
2. Захарова Н.Б., Пастушкова Л.Х., Ларина И.М. и др. Значение протеомного состава мочи при заболеваниях мочевыводящих путей (обзор литературы) // Эксп. клин. уrol. 2017. Т. 1. С. 22–29.
3. Каширина Д.Н., Пастушкова Л.Х., Кононихин А.С. и др. Анализ влияния уровня солепотребления на экспрессируемые в эндотелии белки мочи человека при 105-суточной изоляции // Авиакосм. экол. мед. 2017. Т. 51(4). С. 21–27. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2017-51-4-21-27>
4. Пастушкова Л.Х., Каширина Д.Н., Гончарова А.Г. и др. Особенности возрастных изменений протеомного состава мочи здоровых лиц (экспериментально-теоретическое исследование) // Усп. геронтол. 2020. Т. 33(4). С. 735–740.
5. Трифонова О.П. Оценка пластичности протеома плазмы крови здорового человека в экстремальных условиях жизнедеятельности: Дис. ... канд. биол. наук. М.: Институт медико-биологических проблем. 2011.
6. Ahmad S., Moorthy M.V., Demler O.V. et al. Assessment of risk factors and biomarkers associated with risk of cardiovascular disease among women consuming a Mediterranean diet // JAMA Netw. Open. 2018. V. 1. P. e185708. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.5708>
7. Anisimova A.S., Alexandrov A.I., Makarova N.E., Gladyshev V.N., Dmitriev S.E. Protein synthesis and quality control in aging // Aging (Albany NY). 2018. V. 10(12). P. 4269–4288. <https://doi.org/10.18632/aging.101721>
8. Arvey A., Rowe M., Legutki J.B. et al. Age-associated changes in the circulating human antibody repertoire are upregulated in autoimmunity // Immun. Ageing. 2020. V. 17. P. 28. <https://doi.org/10.1186/s12979-020-00193-x>
9. Benard O., Lim J., Apontes P. et al. Impact of high-fat diet on the proteome of mouse liver // J. Nutr. Biochem. 2016. V. 31. P. 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.12.012>
10. Bjelosevic S., Pascovici D., Ping H. et al. Quantitative age-specific variability of plasma proteins in healthy neonates, children and adults // Mol. Cell Proteomics. 2017. V. 16(5). P. 924–935. <https://doi.org/10.1074/mcp.M116.066720>
11. Blanco-Suarez E., Liu T.F., Kopelevich A., Allen N.J. Astrocyte-secreted chordin-like 1 drives synapse maturation and limits plasticity by increasing synaptic GluA2 AMPA receptors // Neuron. 2018. V. 100(5). P. 1116–1132.e13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.043>
12. Brzhozovskiy A.G., Kononikhin A.S., Pastushkova L.Ch. et al. The Effects of spaceflight factors on the human plasma proteome, including both real space missions and ground-based experiments // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20(13). P. 3194. <https://doi.org/10.3390/ijms20133194>
13. Caballero F.F., Struijk E.A., Buño A. et al. Plasma amino acids and risk of impaired lower-extremity function and role of dietary intake: a nested case-control study in older adults // Gerontology. 2020. V. 68(2). P. 181–191. <https://doi.org/10.1159/000516028>
14. Cao Z., Kamlage B., Wagner-Golbs A. et al. An integrated analysis of metabolites, peptides, and inflammation biomarkers for assessment of preanalytical variability of human plasma // J. Proteome Res. 2019. V. 18(6). P. 2411–2421. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00903>
15. Chai Y.L., Hilal S., Chong J.P.C. et al. Growth differentiation factor-15 and white matter hyperintensities in cognitive impairment and dementia // Medicine (Baltimore). 2016. V. 95(33). P. e4566. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004566>
16. Christensen K., Johnson T.E., Vaupel J.W. The quest for genetic determinants of human longevity: challenges and insights // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7. P. 436–448. <https://doi.org/10.1038/nrg1871>
17. Contrepois K., Wu Si, Moneghetti K.J., Hornburg D., Ahadi S. Molecular choreography of acute exercise // Cell. 2020. V. 181(5). P. 1112–1130.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.043>
18. Corzett T.H., Fodor I.K., Choi M.W. et al. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome // J. Biomed. Biotech. 2010. V. 2010. P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2010/258494>
19. Daniels J.R., Cao Z., Maisha M. et al. Stability of the human plasma proteome to pre-analytical variability as assessed by an aptamer-based approach // J. Proteome Res. 2019. V. 18(10). P. 3661–3670. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00320>
20. Darst B.F., Kosciak R.L., Hogan K.J., Johnson S.C., Engelman C.D. Longitudinal plasma metabolomics of aging and sex // Aging. 2019. V. 11(4). P. 1262–1282. <https://doi.org/10.18632/aging.101837>
21. Dato S., Rose G., Crocco P. et al. The genetics of human longevity: an intricacy of genes, environment, culture and microbiome // Mech. Ageing Dev. 2017. V. 165(Pt B). P. 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.03.011>
22. de Magalhaes J.P. Why genes extending lifespan in model organisms have not been consistently associated with human longevity and what it means to translation research // Cell Cycle. 2014. V. 13. P. 2671–2673. <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.950151>

23. *De Miguel Z., Houry N., Betley M.J. et al.* Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin // *Nature*. 2021. V. 600(7889). P. 494–499.
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-04183-x>
24. *Derous D., Mitchell S.E., Green C.L. et al.* The effects of graded levels of calorie restriction: VII. Topological rearrangement of hypothalamic aging networks // *Aging* (Albany NY). 2016. V. 8(5). P. 917–932.
<https://doi.org/10.18632/aging.100944>
25. *Dorninger F., Moser A.B., Kou J. et al.* Alterations in the plasma levels of specific choline phospholipids in Alzheimer's disease mimic accelerated aging // *J. Alzheimers Dis.* 2018. V. 62(2). P. 841–854.
<https://doi.org/10.3233/jad-171036>
26. *Ennerfelt H.E., Lukens J.R.* The role of innate immunity in Alzheimer's disease // *Immunol. Rev.* 2020. V. 297(1). P. 225–246.
<https://doi.org/10.1111/imr.12896>
27. *Escobar K.A., Cole N.H., Mermier C.M., VanDusseldorp T.A.* Autophagy and aging: Maintaining the proteome through exercise and caloric restriction // *Aging Cell.* 2019. V. 18(1). P. e12876.
<https://doi.org/10.1111/accel.12876>
28. *Fenesi B., Fang H., Kovacevic A. et al.* Physical exercise moderates the relationship of apolipoprotein e (apoe) genotype and dementia risk: a population-based study // *J. Alzheimers Dis.* 2017. V. 56(1). P. 297–303.
<https://doi.org/10.3233/JAD-160424>
29. *Fischer C.P.* Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? // *Exerc. Immunol. Rev.* 2006. V. 12. P. 6–33.
30. *Fletcher G.F., Landolfo C., Niebauer J. et al.* Promoting physical activity and exercise: jacc health promotion series // *JACC* 2018. 2018. V. 72. P. 1622–1639.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.08.2141>
31. *Fung T.T., McCullough M.L., Newby P.K. et al.* Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. V. 82. P. 163–173.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/82.1.163>
32. *Furuhashi M., Saitoh S., Shimamoto K., Miura T.* Fatty Acid-Binding Protein 4 (FABP4): Pathophysiological insights and potent clinical biomarker of metabolic and cardiovascular diseases // *Clin. Med. Insights Cardiol.* 2015. V. 8. P. 23–33.
<https://doi.org/10.4137/CMC.S17067>
33. *Gabuza K.B., Sibuyi N.R.S., Mobo M.P., Madiehe A.M.* Differentially expressed serum proteins from obese Wistar rats as a risk factor for obesity-induced diseases // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). P. 12415.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-69198-2>
34. *García-Bailo B., Brenner D.R., Nielsen D. et al.* Dietary patterns and ethnicity are associated with distinct plasma proteomic groups // *Am. J. Clin. Nutr.* 2012. V. 95. P. 352–361.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.111.022657>
35. *García-Fontana B., Morales-Santana S., Díaz Navarro C. et al.* Metabolomic profile related to cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A pilot study // *Talanta*. 2016. V. 148. P. 135–143.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.070>
36. *Geyer P.E., Voytik E., Treit P.V. et al.* Plasma proteome profiling to detect and avoid sample-related biases in biomarker studies // *EMBO Mol. Med.* 2019. V. 11(11). P. e10427.
<https://doi.org/10.15252/emmm.201910427>
37. *Giada F., Biffi A., Agostoni P. et al.* Exercise prescription for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: Part I // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 2008. V. 9. P. 529–544.
<https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e3282f7ca77>
38. *Gibson K.L., Wu Y.C., Barnett Y. et al.* B-cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status // *Aging Cell.* 2009. V. 8(1). P. 18–25.
<https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00443.x>
39. *Grao-Cruces E., Varela L.M., Martin M.E., Bermudez B., Montserrat-de la Paz S.* High-density lipoproteins and mediterranean diet: a systematic review // *Nutrients*. 2021. V. 13(3). P. 955.
<https://doi.org/10.3390/nu13030955>
40. *Guseh J.S., Churchill T.W., Yeri A. et al.* An expanded repertoire of intensity-dependent exercise-responsive plasma proteins tied to loci of human disease risk // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). P. 10831.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-67669-0>
41. *Halvey P., Farutin V., Koppes L. et al.* Variable blood processing procedures contribute to plasma proteomic variability // *Clin. Proteomics*. 2021. V. 18(1). P. 5.
<https://doi.org/10.1186/s12014-021-09311-3>
42. *Harney D.J., Hutchison A.T., Hatchwell L. et al.* Proteomic analysis of human plasma during intermittent fasting // *J. Proteome Res.* 2019. V. 18(5). P. 2228–2240.
<https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00090>
43. *Harris H., Håkansson N., Olofsson C. et al.* The Swedish mammography cohort and the cohort of Swedish men: study design and characteristics of two population-based longitudinal cohorts // *OA Epidemiology*. 2013. V. 1(2). P. 16.
44. *Harrison D.E., Strong R., Sharp Z.D. et al.* Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice // *Nature*. 2009. V. 460(7253). P. 392–395.
<https://doi.org/10.1038/nature08221>
45. *Hasnain S.Z., Borg D.J., Harcourt B.E. et al.* Glycemic control in diabetes is restored by therapeutic manipulation of cytokines that regulate beta cell stress // *Nat. Med.* 2014. V. 20(12). P. 1417–1426.
<https://doi.org/10.1038/nm.3705>
46. *He X.F., Liu D.X., Zhang Q. et al.* Voluntary exercise promotes glymphatic clearance of amyloid beta and reduces the activation of astrocytes and microglia in aged mice // *Front. Mol. Neurosci.* 2017. V. 10. P. 144.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00144>

47. Heywood W.E., Galimberti D., Bliss E. et al. Identification of novel CSF biomarkers for neurodegeneration and their validation by a high-throughput multiplexed targeted proteomic assay // *Mol. Neurodegener.* 2015. V. 10. P. 64.
<https://doi.org/10.1186/s13024-015-0059-y>
48. Hirata T., Arai Y., Yuasa S. et al. Associations of cardiovascular biomarkers and plasma albumin with exceptional survival to the highest ages // *Nat. Commun.* 2020. V. 11(1). P. 3820.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17636-0>
49. Ho J.E., Lyass A., Courchesne P. et al. Protein biomarkers of cardiovascular disease and mortality in the community // *J. Am. Heart Assoc.* 2018. V. 7. P. e008108.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008108>
50. Hoffman J.M., Lyu Y., Pletcher S.D., Promislow D.E.L. Proteomics and metabolomics in ageing research: from biomarkers to systems biology // *Essays Biochem.* 2017. V. 61(3). P. 379–388.
<https://doi.org/10.1042/EBC20160083>
51. Hoogeveen R.C., Gaubatz J.W., Sun W. et al. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. V. 34(5). P. 1069–1077.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303284>
52. Houtkooper R.H., Williams R.W., Auwerx J. Metabolic networks of longevity // *Cell.* 2010. V. 142. P. 9–14.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.029>
53. Huang J., Khademi M., Lindhe Ö. et al. Assessing the preanalytical variability of plasma and cerebrospinal fluid processing and its effects on inflammation-related protein biomarkers // *Mol. Cell Proteomics.* 2021. V. 20. P. 100157.
<https://doi.org/10.1016/j.mcpro.2021.100157>
54. Jarvis S., Gethings L.A., Samanta L. et al. High fat diet causes distinct aberrations in the testicular proteome // *Int. J. Obes. (Lond).* 2020. V. 44(9). P. 1958–1969.
<https://doi.org/10.1038/s41366-020-0595-6>
55. Jonker M.J., Melis J.P.M., Kuiper R.V. et al. Life spanning murine gene expression profiles in relation to chronological and pathological aging in multiple organs // *Aging Cell.* 2013. V. 12. P. 901–909.
<https://doi.org/10.1111/accel.12118>
56. Kanoski S.E., Davidson T.L. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity // *Physiol. Behav.* 2011. V. 103(1). P. 59–68.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.003>
57. Kashirina D.N., Brzhozovskiy A.G., Pastushkova L.K. et al. Semi-quantitative proteomic research of protein plasma profile of volunteers in 21-day head down bed rest // *Front. Physiol.* 2020. V. 11. P. 678.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00678>
58. Kavazis A.N., Alvarez S., Talbert E., Lee Y., Powers S.K. Exercise training induces a cardioprotective phenotype and alterations in cardiac subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondrial proteins // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009. V. 297. P. H144–H152.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01278.2008>
59. Kim Y., Lu S., Ho J.E. et al. Proteins as mediators of the association between diet quality and incident cardiovascular disease and all-cause mortality: The Framingham Heart Study // *J. Am. Heart Assoc.* 2021. V. 10(18). P. e021245.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.121.021245>
60. Kortenoeven M.L.A., Cheng L., Wu Q., Fenton R.A. An in vivo protein landscape of the mouse DCT during high dietary K⁺ or low dietary Na⁺ intake // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2021. V. 320(5). P. F908–F921.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00064.2021>
61. Kraus W.E., Houmard J.A., Duscha B.D. et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins // *N. Engl. J. Med.* 2002. V. 347(19). P. 1483–1492.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa020194>
62. Kruger R. Proteomics insights on how physical inactivity can influence cardiovascular health // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019. V. 26(17). P. 1862–1864.
<https://doi.org/10.1177/2047487319872019>
63. Krumsiek J., Mittelstrass K., Do K.T. et al. Gender-specific pathway differences in the human serum metabolome // *Metabolomics.* 2015. V. 11(6). P. 1815–1833.
<https://doi.org/10.1007/s11306-015-0829-0>
64. Kujala U.M., Kaprio J., Sarna S., Koskenvuo M. Relationship of leisure-time physical activity and mortality: The Finnish twin cohort // *JAMA.* 1998. V. 279(6). P. 440–444.
<https://doi.org/10.1001/jama.279.6.440>
65. Kumar A.A., Satheesh G., Vijayakumar G. et al. Plasma leptin level mirrors metabolome alterations in young adults // *Metabolomics.* 2020. V. 16(8). P. 87.
<https://doi.org/10.1007/s11306-020-01708-9>
66. Larina I.M., Pastushkova L.Kh., Tiys E.S. et al. Permanent proteins in the urine of healthy humans during the mars-500 experiment // *J. Bioinf. and Comput. Biol.* 2015. V. 1(13). P. 1540001.
<https://doi.org/10.1142/s0219720015400016>
67. Laye M.J., Tran V., Jones D.P., Kapahi P., Promislow D.E. The effects of age and dietary restriction on the tissue-specific metabolome of *Drosophila* // *Aging Cell.* 2015. V. 14(5). P. 797–808.
<https://doi.org/10.1111/accel.12358>
68. Lee E.J., Jan A.T., Baig M.H. et al. Fibromodulin: a master regulator of myostatin controlling progression of satellite cells through a myogenic program // *FASEB J.* 2016. V. 30. P. 2708–2719.
<https://doi.org/10.1096/fj.201500133R>
69. Liao C.-C., Lin Y.-L., Kuo C.-F. Effect of high-fat diet on hepatic proteomics of hamsters // *J. Agric. Food Chem.* 2015. V. 63(6). P. 1869–1881.
<https://doi.org/10.1021/jf506118j>
70. Lin B.R., Yu C.J., Chen W.C. et al. Green tea extract supplement reduces D-galactosamine-induced acute liver injury by inhibition of apoptotic and proinflammatory

- tory signaling // *J. Biomed. Sci.* 2009. V. 16(1). P. 35.
<https://doi.org/10.1186/1423-0127-16-35>
71. *Lind L., Elmståhl S., Bergman E. et al.* EpiHealth: a large population-based cohort study for investigation of gene-lifestyle interactions in the pathogenesis of common diseases // *Eur. J. Epidemiol.* 2013. V. 28(2). P. 189–97.
<https://doi.org/10.1007/s10654-013-9787-x>
 72. *Lind L., Sundström J., Larsson A. et al.* Longitudinal effects of aging on plasma proteins levels in older adults – associations with kidney function and hemoglobin levels // *PLoS One.* 2019. V. 14(2). P. e0212060.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212060>
 73. *Lindbohm J.V., Mars N., Walker K.A. et al.* Plasma proteins, cognitive decline, and 20-year risk of dementia in the Whitehall II and Atherosclerosis Risk in Communities studies // *Alzheimers Dement.* 2021. Epub ahead of print.
<https://doi.org/10.1002/alz.12419>
 74. *Liu C.W., Bramer L., Webb-Robertson B.J. et al.* Temporal profiles of plasma proteome during childhood development // *J. Proteomics.* 2017. V. 152. P. 321–328.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.11.016>
 75. *Loef M., von Hegedus J.H., Ghorasaini M. et al.* Reproducibility of targeted lipidome analyses (lipidyzer) in plasma and erythrocytes over a 6-week period // *Metabolites.* 2020. V. 11(1). P. 26.
<https://doi.org/10.3390/metabo11010026>
 76. *Loguercio C., Federico A.* Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis // *Free Radic. Biol. Med.* 2003. V. 34(1). P. 1–10.
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)01167-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01167-x)
 77. *Lu A.T., Quach A., Wilson J.G. et al.* DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan // *Aging (Albany NY).* 2019. V. 11. P. 303–327.
<https://doi.org/10.18632/aging.101684>
 78. *Lv Y., Mao C., Yin Z. et al.* Healthy Ageing and Biomarkers Cohort Study (HABCS): a cohort profile // *BMJ Open.* 2019. V. 9(10). P. e026513.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026513>
 79. *Machado-Fragua M.D., Hoogendijk E.O., Struijk E.A. et al.* High dephospho-uncarboxylated matrix Gla protein concentrations, a plasma biomarker of vitamin K, in relation to frailty: the Longitudinal Aging Study Amsterdam // *Eur. J. Nutr.* 2019. V. 59(3). P. 1243–1251.
<https://doi.org/10.1007/s00394-019-01984-9>
 80. *Mäkinen V.P., Ala-Korpela M.* Metabolomics of aging requires large-scale longitudinal studies with replication // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. V. 113. P. E3470.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1607062113>
 81. *Melander O., Modrego J., Zamorano-León J.J. et al.* New circulating biomarkers for predicting cardiovascular death in healthy population // *J. Cell. Mol. Med.* 2015. V. 19(10). P. 2489–2499.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.12652>
 82. *Meschiari C.A., Ero O.K., Pan H., Finkel T., Lindsey M.L.* The impact of aging on cardiac extracellular matrix // *Geroscience.* 2017. V. 39(1). P. 7–18.
<https://doi.org/10.1007/s11357-017-9959-9>
 83. *Micha R., Penhalvo J.L., Cudhea F. et al.* Association between dietary factors and mortality from heart disease, stroke, and type 2 diabetes in the United States // *JAMA.* 2017. V. 317. P. 912924.
<https://doi.org/10.1001/jama.2017.0947>
 84. *Mindikoglu A.L., Abdulsada M.M., Jain A. et al.* Intermittent fasting from dawn to sunset for four consecutive weeks induces anticancer serum proteome response and improves metabolic syndrome // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). P. 18341.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-73767-w>
 85. *Moaddel R., Ubaida-Mohien C., Tanaka T. et al.* Proteomics in aging research: A roadmap to clinical, translational research // *Aging Cell.* 2021. V. 20(4). P. e13325.
<https://doi.org/10.1111/acel.13325>
 86. *Mohammadzadeh Honarvar N., Zarezadeh M., Molsberry S.A., Ascherio A.* Changes in plasma phospholipids and sphingomyelins with aging in men and women: A comprehensive systematic review of longitudinal cohort studies // *Ageing Res. Rev.* 2021. V. 68. P. 101340.
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101340>
 87. *Moon H.Y., Becke A., Berron D. et al.* Running-induced systemic cathepsin B secretion is associated with memory function // *Cell. Metab.* 2016. V. 24(2). P. 332–340.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.025>
 88. *Moreira L.D., Oliveira M.L., Lirani-Galvão A.P. et al.* Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2014. V. 58(5). P. 514–522.
<https://doi.org/10.1590/0004-273000003374>
 89. *Nagaraj N., D'Souza R.C., Cox J., Olsen J.V., Mann M.* Feasibility of largescale phosphoproteomics with higher energy collisional dissociation fragmentation // *J. Proteome Res.* 2010. V. 12(9). P. 6786–6794.
<https://doi.org/10.1021/pr100637q>
 90. *Nerurkar P.V., Johns L.M., Buesa L.M. et al.* Momordica charantia (bitter melon) attenuates high-fat diet-associated oxidative stress and neuroinflammation // *J. Neuroinflammation.* 2011. V. 8. P. 64.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-64>
 91. *Ni X., Bai C., Nie C. et al.* Identification and replication of novel genetic variants of ABO gene to reduce the incidence of diseases and promote longevity by modulating lipid homeostasis // *Aging (Albany NY).* 2021. V. 13(22). P. 24655–24674.
<https://doi.org/10.18632/aging.203700>
 92. *Ohara T., Hata J., Tanaka M. et al.* Serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 2 as a biomarker for incident dementia: the Hisayama Study // *Ann. Neurol.* 2019. V. 85(1). P. 47–58.
<https://doi.org/10.1002/ana.25385>
 93. *Ojo J.O., Reed J.M., Crynen G. et al.* APOE genotype dependent molecular abnormalities in the cerebrovasculature of Alzheimer's disease and age-matched non-

- demented brains // *Mol. Brain*. 2021. V. 14(1). P. 110. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00803-9>
94. *Oliveira P.V.S., Garcia-Rosa S., Sachetto A.T.A. et al.* Protein disulfide isomerase plasma levels in healthy humans reveal proteomic signatures involved in contrasting endothelial phenotypes // *Redox Biol*. 2019. V. 22. P. 101142. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101142>
 95. *Orre M., Kamphuis W., Osborn L.M. et al.* Acute isolation and transcriptome characterization of cortical astrocytes and microglia from young and aged mice // *Neurobiol. Aging*. 2014. V. 35. P. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.008>
 96. *Oudot C., Gomes A., Nicolas V. et al.* CSRP3 mediates polyphenols-induced cardioprotection in hypertension // *J. Nutr. Biochem*. 2019. V. 66. P. 29–42. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.01.001>
 97. *Palmer S., Albergante L., Blackburn C.C., Newman T.J.* Thymic involution and rising disease incidence with age // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2018. V. 115(8). P. 1883–1888. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714478115>
 98. *Panwar P., Hedtke T., Heinz A. et al.* Expression of elastolytic cathepsins in human skin and their involvement in age-dependent elastin degradation // *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj*. 2020. V. 1864(5). P. 129544. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129544>
 99. *Park J.Y., Lee S.H., Shin M.J., Hwang G.S.* Alteration in metabolic signature and lipid metabolism in patients with angina pectoris and myocardial infarction // *PLoS One*. 2015. V. 10(8). P. e0135228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135228>
 100. *Parker B.L., Burchfield J.G., Clayton D. et al.* Multiplexed temporal quantification of the exercise-regulated plasma peptidome // *Mol. Cell. Proteomics*. 2017. V. 16(12). P. 2055–2068. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA117.000020>
 101. *Pastushkova L.Ch., Goncharova A.G., Kashirina D.N. et al.* Characteristics of blood proteome changes in hemorrhagic syndrome after head-up tilt test during 21-day Dry Immersion // *Acta Astronautica*. 2021. V. 189. P. 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2021.08.044>
 102. *Petersen R.C., Lopez O., Armstrong M.J. et al.* Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology // *Neurology*. 2018. V. 90(3). P. 126–135. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004826>
 103. *Piercy K.L., Troiano R.P., Ballard R.M. et al.* The physical activity guidelines for Americans // *JAMA*. 2018. V. 320(19). P. 2020–2028. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.14854>
 104. *Prakash R.S., Voss M.W., Erickson K.I., Kramer A.F.* Physical activity and cognitive vitality // *Annu. Rev. Psychol*. 2015. V. 66. P. 769–797. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010814-015249>
 105. *Rabaglino M.B., Wakabayashi M., Pearson J.T., Jensen L.J.* Effect of age on the vascular proteome in middle cerebral arteries and mesenteric resistance arteries in mice // *Mech. Ageing Dev*. 2021. V. 200. P. 111594. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111594>
 106. *Rist M.J., Roth A., Frommherz L. et al.* Metabolite patterns predicting sex and age in participants of the Karlsruhe Metabolomics and Nutrition (KarMeN) study // *PLoS One*. 2017. V. 12. P. e0183228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183228>
 107. *Robbins J.M., Peterson B., Schranter D. et al.* Human plasma proteomic profiles indicative of cardiorespiratory fitness // *Nat. Metab*. 2021. V. 3(6). P. 786–797. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00400-z>
 108. *Rochette L., Zeller M., Cottin Y., Vergely C.* GDF15: an emerging modulator of immunity and a strategy in COVID-19 in association with iron metabolism // *Trends Endocrinol. Metab*. 2021. V. 32(11). P. 875–889. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.08.011>
 109. *Sánchez-Infantes D., Nus M., Navas-Madroñal M. et al.* Oxidative stress and inflammatory markers in abdominal aortic aneurysm // *Antioxidants (Basel)*. 2021. V. 10(4). P. 602. <https://doi.org/10.3390/antiox10040602>
 110. *Santos-Parker J.R., Santos-Parker K.S., McQueen M.B., Martens C.R., Seals D.R.* Habitual aerobic exercise and circulating proteomic patterns in healthy adults: relation to indicators of healthspan // *J. Appl. Physiol*. (1985). 2018. V. 125(5). P. 1646–1659. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00458.2018>
 111. *Schurgers L.J., Uitto J., Reutelingsperger C.P.* Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization // *Trends Mol. Med*. 2013. V. 19. P. 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.008>
 112. *Shaw A.C., Goldstein D.R., Montgomery R.R.* Age-dependent dysregulation of innate immunity // *Nat. Rev. Immunol*. 2013. V. 13(12). P. 875–887. <https://doi.org/10.1038/nri3547>
 113. *Shi D., Han T., Chu X. et al.* An isocaloric moderately high-fat diet extends lifespan in male rats and *Drosophila* // *Cell. Metab*. 2021. V. 33(3). P. 581–597.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.12.017>
 114. *Shigueva T.A., Kitov V.V., Tomilovskaya E.S., Kozlovskaya I.B.* Characteristics of precise motor control in human under microgravity conditions // *Int. J. Appl. Fund. Res*. 2020. V. 2. P. 34–39. <https://doi.org/10.17513/mjpf.13005>
 115. *Sleddering M.A., Markvoort A.J., Dharuri H.K. et al.* Proteomic analysis in type 2 diabetes patients before and after a very low calorie diet reveals potential disease state and intervention specific biomarkers // *PLoS One*. 2014. V. 9(11). P. e112835. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112835>
 116. *Spencer J.P.E.* Flavonoids and brain health: multiple effects under-pinned by common mechanisms // *Genes Nutr*. 2009. V. 4(4). P. 243–250. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0136-3>

117. *Srivastava A., Barth E., Ermolaeva M.A. et al.* Tissue-specific gene expression changes are associated with aging in mice // *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2020. V. 18(4). P. 430–442. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2020.12.001>
118. *St Hilaire C., Ziegler S.G., Markello T.C. et al.* NT5E mutations and arterial calcifications // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 364. P. 432–442. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0912923>
119. *Stattin K., Lind L., Elmståhl S. et al.* Physical activity is associated with a large number of cardiovascular-specific proteins: Cross-sectional analyses in two independent cohorts // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019. V. 26(17). P. 1865–1873. <https://doi.org/10.1177/2047487319868033>
120. *Stilling R.M., Benito E., Gertig M. et al.* De-regulation of gene expression and alternative splicing affects distinct cellular pathways in the aging hippocampus // *Front. Cell. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 373. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00373>
121. *Sun B., Wang J.H., Lv Y.Y. et al.* Proteomic adaptation to chronic high intensity swimming training in the rat heart // *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics*. 2008. V. 3. P. 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2007.11.001>
122. *Sun B.B., Maranville J.C., Peters J.E. et al.* Genomic atlas of the human plasma proteome // *Nature*. 2018. V. 558(7708). P. 73–79. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0175-2>
123. *Szűcs G., Sója A., Péter M. et al.* Prediabetes induced by fructose-enriched diet influences cardiac lipidome and proteome and leads to deterioration of cardiac function prior to the development of excessive oxidative stress and cell damage // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019. V. 2019. P. 3218275. <https://doi.org/10.1155/2019/3218275>
124. *Szuhany K.L., Bugatti M., Otto M.W.* A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor // *J. Psychiatr. Res.* 2015. V. 60. P. 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.10.003>
125. *Tacutu R., Craig T., Budovsky A. et al.* Human Ageing Genomic Resources: integrated databases and tools for the biology and genetics of ageing // *Nucleic Acids Res.* 2013. V. 41(Database issue). P. D1027–33. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1155>
126. *Tanaka T., Biancotto A., Moaddel R. et al.* Plasma proteomic signature of age in healthy humans // *Aging Cell.* 2018. V. 17(5). P. e12799. <https://doi.org/10.1111/acel.12799>
127. *Tebani A., Gummesson A., Zhong W. et al.* Integration of molecular profiles in a longitudinal wellness profiling cohort // *Nat. Commun.* 2020. V. 11(1). P. 4487. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18148-7>
128. *Tharmaratnam T., Civitarese R.A., Tabobondung T., Tabobondung T.A.* Exercise becomes brain: Sustained aerobic exercise enhances hippocampal neurogenesis // *J. Physiol.* 2017. V. 595(1). P. 7–8. <https://doi.org/10.1113/JP272761>
129. *Tynkkynen J., Laatikainen T., Salomaa V. et al.* NT-proBNP and the risk of dementia: a prospective cohort study with 14 years of follow-up // *J. Alzheimers Dis.* 2015. V. 44(3). P. 1007–1013. <https://doi.org/10.3233/JAD-141809>
130. *Varadhan R., Yao W., Matteini A. et al.* Simple biologically informed inflammatory index of two serum cytokines predicts 10 year all-cause mortality in older adults // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2014. V. 69(2). P. 165–173. <https://doi.org/10.1093/gerona/glt023>
131. *Vermeer C., Drummen N.E.A., Knapen M.H.J., Zandbergen F.J.* Uncarboxylated matrix gla protein as a biomarker in cardiovascular disease: applications for research and for routine diagnostics. In: *Patel VB, Preedy VR, eds. Biomarkers in Cardiovascular Disease. Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications*. 1st ed. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2016. P. 267–283. <https://doi.org/10.1007%2F978-94-007-7678-4>
132. *Wang M., Wang R., Li L. et al.* Quantitative proteomics of plasma and liver reveals the mechanism of turmeric in preventing hyperlipidemia in mice // *Food Funct.* 2021. V. 12(21). P. 10484–10499. <https://doi.org/10.1039/d1fo01849c>
133. *Warensjo Lemming E., Byberg L., Stattin K. et al.* Dietary pattern specific protein biomarkers for cardiovascular disease: a cross-sectional study in 2 independent cohorts // *J. Am. Heart Assoc.* 2019. V. 8. P. e011860. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.011860>
134. *Whittaker K., Burgess R., Jones V. et al.* Quantitative proteomic analyses in blood: A window to human health and disease // *J. Leukoc. Biol.* 2019. V. 106(3). P. 759–775. <https://doi.org/10.1002/JLB.MR1118-440R>
135. *Wong M.W.K., Braidyn N., Pickford R. et al.* Plasma lipidome variation during the second half of the human lifespan is associated with age and sex but minimally with BMI // *PLoS One*. 2019. V. 14(3). P. e0214141. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214141>
136. *Xu R., Gong C.X., Duan C.M. et al.* Age-dependent changes in the plasma proteome of healthy adults // *J. Nutr. Health Aging.* 2020. V. 24(8). P. 846–856. <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1392-6>
137. *Yamazaki Y., Zhao N., Caulfield T.R., Liu C.C., Bu G.* Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies // *Nat. Rev. Neurol.* 2019. V. 15. P. 501–518. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0228-7>
138. *Yang A.C., Stevens M.Y., Chen M.B. et al.* Physiological blood-brain transport is impaired with age by a shift in transcytosis // *Nature*. 2020. V. 583(7816). P. 425–430. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2453-z>
139. *Yao F., Hong X., Li S. et al.* Urine-based biomarkers for alzheimer's disease identified through coupling computational and experimental methods // *J. Alzheimers Dis.* 2018. V. 65(2). P. 421–431. <https://doi.org/10.3233/JAD-180261>

140. Yeh C.Y., Adusumilli R., Kullolli M. *et al.* Assessing biological and technological variability in protein levels measured in pre-diagnostic plasma samples of women with breast cancer // *Biomark. Res.* 2017. V. 5. P. 30. <https://doi.org/10.1186/s40364-017-0110-y>
141. Zhao M., Zhao L., Xiong X. *et al.* TMAVA, a metabolite of intestinal microbes, is increased in plasma from patients with liver steatosis, inhibits γ -butyrobetaine hydroxylase, and exacerbates fatty liver in mice // *Gastroenterology*. 2020. V. 158(8). P. 2266–2281.e27. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.033>
142. Zhong W., Gummesson A., Tebani A. *et al.* Whole-genome sequence association analysis of blood proteins in a longitudinal wellness cohort // *Genome Med.* 2020. V. 12(1). P. 53. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00755-0>
143. Zhu S., Li W., Li J. *et al.* It is not just folklore: the aqueous extract of mung bean coat is protective against sepsis // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012. V. 2012. P. 498467. <https://doi.org/10.1155/2012/498467>
144. Zordoky B.N., Sung M.M., Ezekowitz J. *et al.* Metabolic fingerprint of heart failure with preserved ejection fraction // *PLoS One*. 2015. V. 10(5). P. e0124844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124844>

The Contribution of Proteomics and Metabolomics to the Study of Physiological Mechanisms of Adaptation of the Human Body to Life Conditions

I. M. Larina¹, L. Kh. Pastushkova¹, D. N. Kashirina^{1, *}, and M. G. Tyuzhin¹

¹*Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 123007 Russia*

**e-mail: daryakudryavtseva@mail.ru*

Abstract—The rapid development of OMIC technologies has led to the emergence of new tools for studying human physiology – proteomics, metabolomics. Identification, at once, of a huge number of biologically active molecules – proteins, lipids, metabolites, provides information on the composition of biological fluids, the dynamics of its change, molecular interactions and response mechanisms to various influences, which allows us to expand our understanding of the functioning of body systems. At the same time, individual molecules found in the blood can serve as markers for various diseases and premorbid conditions. However, the successful use of biomarkers in the clinic is ensured by the success of studying the dynamics of the composition and level of biomolecules in a healthy body, as well as their changes depending on diet, physical activity, and human age. The review is devoted to the analysis of another important aspect, the variability of the level of proteins, lipids and metabolites both over time and between individuals. Analytical variability adds to the complexity of comparing the results of OMIC studies. The review reveals the issues of age-dependent changes in the proteome and metabolome, the influence of physical activity and the nature of the diet on the proteome, as well as the variability of the biological composition of body fluids in a healthy person. The main contribution of proteomic and metabolomic research, contributing to the identification and analysis of networks of molecular interactions, is currently the generation of hypotheses for fundamental physiology and medicine. In the future, this will serve as a rationale for the development of promising tools and methods for therapeutic interventions and management of medical risks associated with human aging, diseases associated with age, decreased motor activity and metabolic disorders.

Keywords: proteomics, metabolomics, lipidomics, plasma, age, diet, physical activity, variability