МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ ДЛЯ ПРЕВЕНТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

УДК 614.39

Москалев А.А. [1–5]

[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия*

[2]*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина», Сыктывкар, Россия*

[3]*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский физико–технический институт (государственный университет)», Долгопрудный, Россия*

[4]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*

[5]*Резиденция долголетия и красоты GLMED, г. Москва*

MOLECULAR BIOMARKERS OF AGING FOR PREVENTIVE MEDICINE

Moskalev A.A. [1–5]

[1]*Institute of Biology of Komi Science Center of Ural Branch of RAS, Syktyvkar, Russia*

[2]*Syktyvkar State University, Syktyvkar, Russia*

[3]*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia*

[4]*EngelhardtInstitute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

[5]*Residence of Longevity and Beauty GLMED, Moscow, Russia*

Старение – это результат разрушительного воздействия ошибок метаболизма и внешних стресс–факторов на индивидуальное развитие организма, выражающийся в компенсаторной гиперфункции и выходе из строя систем поддержания гомеостаза (от молекулярного до организменного уровней) и увеличении вероятности заболеваний и смерти в совместимых с жизнью условиях обитания[1].

Темпы старения у разных людей одного возраста могут существенно отличаться. Отличаются они и для разных систем и органов в пределах одного организма. Старение одной системы вызывает изменения во многих других. Например, старение сердечно–сосудистой системы может способствовать нейродегенерации и когнитивным нарушениям, болезням печени и почек. Метаболический синдром влияет на старение иммунной системы. Таким образом, помимо возраста по паспорту (календарного, хронологического) у каждого человека есть **биологический возраст**, определяемый индивидуальной скоростью его старения.Темпы старения зависят от генетических особенностей человека, и в значительной степени, от взаимодействия факторов внешней среды с системами поддержания гомеостаза (постоянства) внутренней среды организма.

Когда говорят о скорости старения, в классической биогеронтологии, как правило, имеют в виду изменение средней и максимальной продолжительности жизни у модельных животных. Однако продолжительность жизни человека так велика, что исследовать показатели его долголетия под влиянием образа жизни, диеты, различных лекарств, генных и клеточных терапий долго и экономически нецелесообразно. Поэтому возникла идея выявить взаимосвязь с возрастом различных физиологических и метаболических изменений, мониторинг которых помог бы в оценке эффективности предупреждения и терапии ускоренного старения.

Принятая в современной медицине физиологическая норма для многих показателей изменяется при старении. Это создает предпосылки для того, чтобы наблюдать и измерять возрастные отклонения. В то же время нарастает уровень стохастичности (случайности) отклонений, что обусловливает сложности в интерпретации данных о скорости старения.

Биомаркеры старения – это измеряемые параметры, которые воспроизводимо качественно и количественно изменяются при старении человека[2].

Диагностические биомаркеры старения имеют большой потенциал для ранней диагностики и прогноза риска хронических возрастзависимых заболеваний, а также наблюдения за эффективностью их профилактики и лечения.

Многие возрастассоциируемые патологии развиваются длительное время в скрытой форме. На ранних стадиях клинические проявления болезни оказываются неспецифическими, схожими с другими возрастными изменениями. При этом, чем раньше выявляются подобные отклонения от нормы, связанные с риском конкретного заболевания, тем эффективнее профилактика, тем вероятнее успех в предотвращении опасных для жизни состояний.

Р. Батлер, директор и основатель Национального института старения США, в 2004 году выделил несколько критериев, которым должны отвечать биомаркеры старения[5]. Во–первых, они должны меняться с возрастом. Во–вторых, позволять предвидеть ранние стадии конкретного возрастзависимого заболевания. И, наконец, быть доступными для большинства пациентов по стоимости и минимально инвазивными – не требовать серьезного вмешательства в организм или болезненной процедуры. На их основе мы можем прогнозировать ускоренное или замедленное старение индивида, отслеживать эффективность процедур, направленных

на профилактику старения, таких как изменение диеты, образа жизни, увеличение физической активности, действенность геропротекторных препаратов.

Биомаркеры старения представляют собой **общий** качественный и количественный индикатор функционального состояния человека; в этом их ключевое отличие от факторов риска **конкретных** возрастзависимых патологий (сахарного диабета 2 типа, сердечно–сосудистых заболеваний, болезней Альцгеймера или Паркинсона).

Как отмечает профессор университета Джоржа Мейсона Анча Баранова, главное в биомаркере – максимальная предсказательная сила[3]. Поэтому биомаркер вовсе не обязан иметь известную функциональную связь с процессом, который по нему оценивают. Например, до сих пор не ясна функция используемых в клинике онкомаркеров CEA и PSA, или биологическое значение маркера сахарного диабета HbA1c. Однако это нисколько не уменьшает их значение в выявлении серьезных заболеваний.

При поиске потенциальных биомаркеров выяснилось, что достаточно трудно выбрать какой–либо один показатель в качестве биомаркера старения, который удовлетворял бы всем этим критериям. Каждый биомаркер имеет как свои преимущества, так и ограничения. Поэтому оценка биомаркеров скорости старения должна быть комплексной.

В настоящее время развиваются подходы, в которых предлагается использовать совокупность нескольких десятков биомаркеров.Выделяют четыре основных подхода к разработке биомаркеров старения человека: клинический, экспериментальный, «омиксный» и интегративный.

Советский геронтолог В.М. Дильман в 1987 году опубликовал книгу «Четыре модели медицины»[4], в которой обосновал использование достаточно простых методов оценки преждевременного старения организма, применимых в повседневной клинической практике. Повышенная масса тела или, точнее, содержание жира в теле, которое косвенно может быть рассчитано по показателю роста, массы тела и данных измерения толщины кожно–жировых складок, позволяет судить о склонности к целому ряду серьезных заболеваний (атеросклерозу, сахарному диабету 2 типа, инсульту, остеоартриту, гипертонической болезни). Общий уровень в крови липопротеидов и триглицеридов – маркер предрасположенности к атеросклерозу, коронарной болезни сердца, инфаркту миокарда, панкреатиту. Отклонение от нормы уровня холестерина и холестерина в составе липопротеидов низкой плотности – предрасположенность к атеросклерозу, коронарной болезни сердца. Превышение над нормой количества глюкозы в плазме крови натощак (≥6,1) и через 2 часа после приема внутрь 75 г глюкозы (≥11,1) говорит о сахарном диабете 2 типа. Величина артериального давления сигнализирует о вероятности гипертонической болезни, риске инсульта, коронарной болезни сердца.

Молекулярные биомаркеры. Дезоксирибонуклеиновая кислота (**ДНК**) – носитель наследственной информации о функциях всех клеток нашего тела. Она составляет основу кольцевых хромосом, митохондрий и 46 линейных хромосом ядра человеческой соматической клетки. В отличие от других биомолекул, каждый тип хромосом присутствует лишь в двух копиях на клеточное ядро, а в половых клетках (сперматозоидах или яйцеклетках) каждая хромосома находится вообще лишь в одной копии. Поэтому даже небольшая поломка ДНК в месте расположения жизненно важного гена может стать фатальной. По причине множественного копирования при клеточном делении или под воздействием мутагенных факторов (ионизирующего излучения, свободных радикалов, токсичных веществ) с возрастом происходит накопление повреждений и утрата качества ДНК.

Повреждения ДНК, как правило, быстро устраняются ферментами **репарации**, которые исправляют разрывы нити ДНК, удаляют ошибки и заполняют возникшие пробелы в последовательности нуклеотидов, используя в качестве матрицы соответствующий участок второй цепочки молекулы ДНК. Однако с возрастом способность к репарации ухудшается. Угасание активности ферментов репарации ДНК является неплохим маркером старения клеток. На это есть несколько причин. Репарация – энергозатратный процесс, она требует большого количества молекул АТФ («энергетической валюты» клетки), а ее выработка с возрастом снижается из–за дисфункции митохондрий, «энергетических станций» клетки. Упадок биосинтетических процессов приводит к нехватке дезоксинуклеозидов – букв генетического кода, а репарация возможна только при их наличии. Наконец, эпигенетические изменения модифицируют активность генов самих репарационных белков. Неустранимые повреждения в ДНК служат причиной **мутаций** – однобуквенных замен в генетических последовательностях, либо удвоений (**дупликаций**) и выпадений целых участков (**делеций**) или поломок хромосом (**аберраций**). Нередко случаются и перемещения генетического материала с одного места на другое – **транслокации** и **транспозиции**, вызывающие генетическую нестабильность. Мутации и аберрации являются одной из причин возрастного нарушения функции клетки, гибели клеток или их опухолевого перерождения.

Уровень накопления клетками повреждений, мутаций и хромосомных аберраций служит эффективным маркером скорости старения[7]. Существуют различные лабораторные методы, позволяющие оценить состояние клеток организма. **Микроядра** – патологические структуры внутри клеток, как правило, возникающие вокруг отставших во время деления обломков хромосом. Они выявляются при специальном окрашивании клеток и их анализе под световым микроскопом. С возрастом количество клеток, имеющих микроядра, становится больше,например, среди лейкоцитов крови или клеток кожи. Чем быстрее стареет организм, тем в более раннем возрасте наблюдается увеличение количества таких клеток.

Исследование с помощью люминесцентного микроскопа светящихся (флуоресцентных) ДНК–зондов, имеющих сродство к тем или иным участкам хромосом человека, позволяет выявлять тонкие перестройки (транслокации, делеции, дупликации) в каждой из 46 хромосом человеческой клетки. Этот метод получил название FISH–**окрашивания** хромосом.

Еще один маркер старения –**двухцепочечные разрывы ДНК** – как правило, вызывающие фатальные для клетки повреждения, либо ведущие к генетической нестабильности и опухолевому перерождению. Однако именно их с возрастом становится все больше и больше. Специальное гистохимическое окрашивание (так называемые фокусы гамма–H2AX и 53BP1) позволяет подсчитать под люминесцентным микроскопом число таких разрывов на ядро и тем самым оценить скорость старения изучаемой ткани (в молодых клетках обычно нет таких разрывов, хотя они могут появиться при действии на организм ионизирующей радиации).

При наличии повреждений молекула ДНК становится более подвижной в электрическом поле. Круглое ядро клетки с поврежденной ДНК при электрофорезе становится вытянутым, а мелкие фракции разорванной ДНК формируют при этом «хвост кометы». Чем более выражен хвост, тем более повреждена клеточная ДНК. Данный метод имеет различные модификации, позволяющие полуколичественно (не поштучно, но с помощью конкретного числового показателя) учитывать разные типы повреждений – одно – и двухцепочечные разрывы ДНК, различные окисленные основания ДНК. Наши исследования, проведенные на клетках периферической крови, бравшейся прижизненно у мышей разного возраста, доказали возможность применения данного подхода для оценки интенсивности старения организма[6]. Таким образом, устойчивость к повреждению, как и стрессоустойчивость в целом, в результате старения падает.

Выделенные из крови человека лимфоциты можно культивировать в лаборатории. Показатели гибели клеток, индуцированной повреждением ДНК или иммунной активацией, являются отличными маркерами скорости старения данного человека.

Собственно мутация позволяет выявлять метод секвенирования ДНК – побуквенного прочтения закодированной генетической информации. Накопление с возрастом одно – или многобуквенных изменений последовательности ДНК в жизненно важных генах – фактор старения или озлокачествления клетки.

С каждым делением клетки хромосомы укорачиваются с обоих концов. Концы хромосом защищены особыми «заглушками» – **теломерами**. Однако когда теломеры укорачиваются и утрачиваются при многократном копировании ДНК, хромосомы начинают сливаться друг с другом, разрываться и индуцировать ответ клетки на повреждение, заканчивающийся выходом клетки из цикла делений или гибелью клетки. Длина теломер некоторых клеток крови (лимфоцитов) –показатель скорости старения[8]. Многолетние измерения показали, что люди с более короткими теломерами отличаются более высокими темпами старения, повышенной вероятностью сердечно–сосудистых проблем, рака и возрастзависимоймакулярной дегенерации (форма старческой слепоты)[9]. Укорочению теломер способствует высокий уровень стрессовых гормонов (кортизола, адреналина, норадреналина) и курение.

В некоторых клетках тела функционирует особый фермент – **теломераза**, достраивающий теломеры. В норме он позволяет предшественникам половых клеток и стволовым (а также раковым) клеткам делиться бесконечно. Количество теломеразы можно оценивать в лейкоцитах или стволовых клетках и тем самым предсказывать скорость старения[10].Измерение количества теломеразы в клетках крови, имеющих ядра (у эритроцитов, например, ядер нет), позволяет предсказывать не только состояние ускоренного старения, но и вероятность смерти от сердечно–сосудистых патологий.

Дисфункция теломер и повреждение ДНК с возрастом отражается на уровне определенных стресс–белков в плазме крови (CRAMP, статмина, EF–1α,хитиназы)[11]. Данные изменения, помимо старения, проявляются при миелодиспластическом синдроме, IgA–нефропатии и циррозе печени.

Повреждение ДНК вызывает в клетках каскад процессов, в результате которых клетки полностью утрачивают способность к делению. Это происходит из–за активации некоторых генов, таких как p16, блокирующих цикл клеточного деления. Изначально это явление возникло для предотвращения размножения предраковых клеток, однако теперь оно играет существенную роль в процессах старения человека. Как было показано, уровень активности гена p16 нарастает в иммунных Т–клетках периферической крови с возрастом, причем данный процесс протекает более интенсивно у курильщиков, что свидетельствует об их ускоренном старении[12].

Клеточные биомаркеры. На субклеточном уровне при старении также наблюдаются стойкие изменения. Живая клетка состоит из двух главных составляющих – ядра и цитоплазмы. В ядре клетки сосредоточен хроматин – наследственный материал, состоящий из ДНК и связанных с ней белков. Ядро выполняет функцию хранения и защиты по отношению к ДНК, а его оболочка служит своеобразным ситом, избирательно пропускающим макромолекулы из цитоплазмы в ядро и обратно. Таким образом, его значение в жизнедеятельности клетки трудно переоценить. Оболочка клеточного ядра подстилается каркасом из особых белков – ламинов. Поскольку ламины помогают концам хромосом заякориться в оболочке ядра и в правильной упаковке хроматина, то нарушение соотношений ламинов ведет к дестабилизации наследственного материала или гибели клеток. Дети с дефектом гена ламина А (синдром Хатчинсона–Гилфорда) к 12 годам приобретают все признаки глубокой старости. Изменение соотношения различных вариантов ламинов при обычном старении сопровождается отклонением формы ядер от нормы[13]. Ядра вместо ровной округлой формы могут приобретать выпуклости или пузырьки на своей поверхности. Данные изменения можно наблюдать под световым микроскопом и таким образом учитывать долю старых клеток в образце. Окрашивание клетки при помощи антител к ламинам А/С позволяет рассмотреть и подсчитать необычные ядра под люминесцентным микроскопом[3].

Митохондрии – энергетические станции клеток, вырабатывающие в необходимых количествах энергетическую валюту – молекулу АТФ, постепенно утрачивают целостность своей ДНК. В одной митохондрии может быть несколько молекул **митохондриальныхДНК** (мтДНК). Свободные радикалы, местом образования которых являются митохондрии, окисляют основания в цепочке мтДНК, например, гуанозин. В результате возникают точечные (однобуквенные) мутации, которые наравне с выпадением участков мтДНК (делециями) приводят к сбоям в способности митохондрий к делению и образованию АТФ. МтДНК, имеющая делеции, легче удваивается, так как она короче, процесс ее репликации менее энергозатратен, в результате чего дефектные митохондрии заполоняют стареющие клетки, например, мышц и нейронов мозга (в них больше всего митохондрий), вызывая саркопению и нейродегенерацию. Возникающий недостаток АТФ и других видов энергетической валюты клетки (НАДН, ФАД), преимущественно образующихся в митохондриях, способствует угнетению функциональных способностей тканей, ростовых и репарационных процессов.

Оценка количества мтДНК, приходящейся на одну клетку в образцах крови, позволяет определять качество митохондрий и довольно точно предсказывать биологический возраст[14]. В то время как количество клеточной мтДНК с возрастом снижается, уровень свободно циркулирующей в крови мтДНК возрастает [15]. Свободно циркулирующая кольцевая мтДНК – маркер клеточного

распада. В крови она подвергается окислению, становится похожей на бактериальную кольцевую ДНК и поэтому вызывает воспалительные процессы в организме, активируя рецепторы TLR9 клеток[3].

Старые клетки постепенно забиваются «мусором», состоящим из поврежденных митохондрий и агрегатов окисленных и денатурированных белков. Клетка пытается задействовать все большее количество лизосом для их переваривания. Поэтому такие клетки начинают прокрашиваться на лизосомальный фермент – возрастзависимую**бета–галактозидазу**[16].

В соединительной ткани, эпителии стенки кишечника и кожи, эндотелии сосудов при старении происходит накопление клеток, утративших способность к делению. Это так называемое **клеточное старение**. Старые клетки не только отказываются выполнять свои функции, но и активно повреждают окружающую их ткань, провоцируют воспаление, угнетают стволовые клетки, стимулируют образование опухолей, разрушают **межклеточный матрикс**. Тем не менее, такие клетки продолжают расти в размерах и накапливать некоторые продукты своей жизнедеятельности – старческий пигмент **липофусцин**, **амилоид** (агрегаты поврежденных белков). Они имеют уплощенную форму и гигантские размеры. На срезе ткани их легко выявить и подсчитать при специальном окрашивании на бета–галактозидазу – фермент, связанный со старением.

Липофусцин был впервые описан в нейронах в 1842 году Ганновером. Липофусцин является внутрилизосомным полимерным материалом, который не в состоянии разрушаться гидролитическими ферментами лизосом, или выводится из клетки и организма. Это коричнево–желтый пигмент, который состоит из сшитых поперечно остатков белков, которые образуются в присутствии катализатора – ионов железа. Помимо белков (30–70%) на 20–50% липофусцин состоит из окисленных липидов, а также включает в себя следовые количества углеводов и металлов. Железо в кислой среде лизосом способствует образованию избыточного количества активных форм кислорода, которые приводят к вшиванию белков и липидов в непереваримый липофусцин, который считается важным признаком старения. Липофусцин с возрастом накапливается в ткани мозга, сердца, сетчатке глаза. Его можно измерить в качестве биомаркера старения в крови. Уровень липофусцина, измеренный в слюнеи плазме крови, хорошо коррелирует с возрастом пациента[17]. Это делает тест на содержание липофусцина безболезненным и более доступным, чем многие другие[3].

Повреждение ДНК и эпигенетические нарушения приводят к изменению спектра белков в составе вещества хромосом (хроматина) и пространственной укладки хромосомного материала. Например, ядра старых клеток в избытке содержат участки, окрашиваемые иммуноцитохимически на такие белки как гистон гамма–H2AX, 53BP1 (это маркеры разрывов нитей ДНК), а также PML иHIRA, формирующие участки сверхплотной упаковки ДНК[18]. Последние изменения делают неактивными гены, важные для клеточного деления и роста.

Одной из наиболее доступных для оценки скорости старения тканей является кожа. Происходящие в ней изменения во многом отражают изменения эндокринной и нервной регуляции функций тела при старении, статус иммунной защиты. Легко извлекаемые из кожи фибробласты можно культивировать в лаборатории и оценивать по параметрам их жизнедеятельности общий уровень старения организма[3].

Системные изменения затрагивают гормональный фон, состояние нервной и иммунной систем. Статус **иммунной системы** определяет не только то, как часто мы болеем простудными заболеваниями. Возрастной спад одних сторон иммунитета и гиперактивация других является причиной аутоиммунных заболеваний (ревматоидного артрита, тиреоидита, болезней поджелудочной железы), аллергий, онкологических заболеваний, хронических воспалительных процессов.

Системные биомаркеры

Иммунные изменения. Респираторные инфекции, грипп, и пневмония –ведущие причины смертности среди людей старше 65 лет во всем мире. С возрастом существенно падает эффективность ответа на вакцинацию, снижается способность красного костного мозга продуцировать стволовые клетки, дающие начало новым Т– и В–клеткам иммунной системы. Постепенно происходит инволюция (уменьшение в размерах и утрата функций) тимуса – вилочковой железы. Этот орган играет ключевую роль в образовании и обучении новых Т–клеток иммунной системы. В результате количество новых (так называемых «наивных») Т–клеток резко снижается и организм хуже справляется с новыми вызовами – инфекциями и опухолевыми процессами. Степень инволюции тимуса при старении можно оценить, измеряя в крови уровень особых кольцевых ДНК (sjTRECs), возникающих как побочные продукты созревания Т–лимфоцитов.

Функция тимуса дольше сохраняется у женщин, чем у мужчин. Иммунный ответ у женщин также формируется лучше.

Напротив, возрастает доля **макрофагов**, участвующих в воспалении и атеросклерозе.

Растет доля $CD8^+CD28^-$Т–лимфоцитов, маркеров перенапряжения иммунной системы[19]. Рецептор CD28 играет роль в активации Т–клеток **антигенами** и участвует в делении Т–клеток. Его отсутствие, выражающееся в избытке $CD8^+CD28^-$клеток, подавляет иммунную функцию в организме. Эти клетки оказывают цитотоксическое действие и являются источником воспалительных **цитокинов**. С возрастом увеличивается чувствительность к факторам, способствующим гибели клетки, **Т–клеток памяти**, что вызывает постепенную утрату приобретенного иммунитета.

Хроническая стимуляция антигенами способствует ускоренному **иммуностарению**. Например, показано, что сокращению продолжительности жизни способствует длительное скрытое инфицирование цитомегаловирусом, вирусами герпеса человека. Напротив, низкий груз патогенов (вирусов, болезнетворных бактерий, грибков и простейших) – залог более медленной скорости старения и долголетия.

В старости во много раз увеличивается количество **аутоантител** – иммунных белков, атакующих собственные ткани. К ним относятся: ревматоидный фактор, антиядерные (атакующие хромосомы клеточного ядра), антитиреоидные (разрушающие щитовидную железу), антинейтрофильные (против клеток воспаления – нейтрофилов) антитела и антитела к кардиолипину (основному компоненту стенок энергетических станций клеток – митохондрий). В результате, в пожилом возрасте нередки случаи ревматоидного артрита и гипотиреоза, наблюдается пик проявления системной красной волчанки.

Уровень многих **цитокинов** подвержен изменениям, зависящим от возраста. В плазме крови растет концентрация факторов, способствующих воспалительным реакциям, к которым относятся С–реактивный белок, TNF–α, MCP–1, интерлейкин–1 и 6, 8,белки системы комплемента С3 и С4. В результате развивается атеросклероз, который приводит к ишемической болезни сердца, инфаркту миокарда.Уровень в плазме крови провоспалительногохемокинаCCL11 (эотаксина) также повышается у человека при старении,что отрицательно сказывается нанейрогенезе – образовании новых нейронов из клеток–предшественников[20]. Увеличение уровней CCL11 подавляет нейрогенез в тех участках мозга, где он возможен,например, в гиппокампе, и поэтому нарушает способности к обучению и памяти. Противовоспалительные цитокины, важные для выполнения иммунной функции, наоборот, находятся в дефиците: интерферон–γ, интерлейкины–2,7, 10.

Провоспалительный белковый профиль, обнаруживаемый в сыворотке крови – характерный признак ускоренного старения. С хроническим воспалением связаны сахарный диабет 2 типа, образование опухолей и болезнь Альцгеймера[3].

Эндокринные изменения. Гормоны тонко регулируют постоянство внутренней среды организма – гомеостаз, и их избыток или недостаток остро сказывается на метаболическом балансе и самочувствии(табл. 1). Проблемы с гормонами являются одной из причин многих неприятностей. Среди них сахарный диабет 2 типа, остеопороз, эректильная дисфункция, гипогонадизм, избыточный вес.

С возрастом происходит инволюция **эпифиза** – участка головного мозга, продуцирующего гормон мелатонин, регулирующий дневные и сезонные биологические ритмы организма. В результате выработка собственного мелатонина перед сном резко снижается, нарушается засыпание, качество сна, возникает прерывистость сна[21]. Мелатонин в ряде экспериментов с животными приводил к увеличению продолжительности жизни. Он препятствует не только нарушению сна, но и десинхронозу – нарушению суточных ритмов организма. Месячный курс приема мелатонина возвращал старым мышам уровни провоспалительных цитокинов к состоянию, характерному только для молодых животных[22].

Мелатонин стимулирует выработку гормона роста, необходимого для осуществления регенерации тканей и снижения доли жировой ткани. Уровни гормона роста значительно снижаются при старении[23]. Это изменение – не только отличный биомаркер скорости старения, но и фактор, оказывающий влияние на развитие сердечно–сосудистых заболеваний, остеопороза, морщинистости, поседения, нарушения репродуктивной функции,увеличение жировой прослойки. Вслед за гормоном роста в плазме крови обнаруживается все меньше подконтрольного ему гормона – инсулиноподобного фактора роста 1[24]. Это причина нарушения образования клеток крови, биосинтеза стероидов (предшественников многих гормонов, в том числе половых) и деления предшественников мышечных волокон – миобластов.

Не все гормональные изменения при старении сопровождаются уменьшением уровней гормонов. Количество гормона стресса кортизола, измеряемого в первый час после сна, напротив, с возрастом несколько увеличивается[25]. Причем у мужчин данные изменения более выражены, чем у женщин. Избыток кортизола приводит к повышению уровня сахара в крови, увеличению кровяного давления, ожирению, мышечной слабости, ухудшению состояния кожи, остеопорозу. Наблюдаемый с возрастом недостаток витамина Д3, кальцитонина и избыток паратиреоидного гормона также ведут к появлению остеопороза и повышению уровня кальция в крови.

Омиксные» биомаркеры старения. Не существует «идеального» биомаркера старения. В связи с удешевлением современных высокопроизводительных методов изучения биологических молекул, многообещающим подходом может стать полный анализ и сопоставление профилей ДНК, РНК, белков и метаболитов людей разных возрастов с разным спектром хронических заболеваний.

Наука, изучающая структуру и функции совокупности всех наших генов, – **геномика**, белков – **протеомика**, метаболитов – **метаболомика**. Опираясь на сходство окончаний в этих терминах, биомаркеры, разрабатываемые в рамках этих наук, называют «**омиксными**». Старение слишком сложный процесс чтобы полагаться на изменение одного–двух показателей. Поэтому, опираясь на современные технические возможности, исследователи стали анализировать «омики», то есть все совокупности генов, транскриптов, метаболитов и белков (табл.2).

Геномика. Наиболее развит и доступен каждому уже сейчас геномный подход. Строго говоря, исследования генома не дают нам биомаркеров старения. В геноме лишь кроется ключ к наследственным задаткам, которые достались нам от родителей и свидетельствуют, например, о потенциальном риске синдромов ускоренного старения (наследственных болезнях, при которых в 30 лет люди становятся глубокими старцами) или предрасположенности к тому или иному возрастзависимому заболеванию (раку, сахарному диабету типа 2, нейродегенерации). Учет таких рисков и коррекция в соответствие с ними образа жизни и частоты профилактических обследований – залог здорового долголетия. В ряде случаев, когда речь идет о накопленных с возрастом соматических мутациях, анализ генома какой–либо ткани (например, клеток крови или кожи) может помочь спрогнозировать риск развития патологии, например опухоли, или оценить общий темп старения.

В основе определения генетической предрасположенности лежат несколько видов анализа.

Во–первых, это исследование снипов – вариаций последовательности ДНК, когда один из нуклеотидов в геноме одного индивидуума отличается от другого. Анализ предрасположенности по снипам стал возможен благодаря масштабным исследованиям ассоциации между заболеваемостью и последовательностью генома у большого количества людей по всему миру.

Полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) привели к обнаружению многих снипов, тесно связанных с хроническими заболеваниями, являющимися основными причинами смерти человека (ишемическая болезнь сердца, рак, сахарный диабет 2 типа). В настоящее время одновременный анализ сотен тысяч снипов позволяет оценивать риск развития около трех сотен хронических (разные формы рака, сердечно–сосудистые, нейродегенеративные заболевания, сахарный диабет 2 типа) и наследственных (включая синдромы ускоренного старения Вернера и Хантингтона–Гилфорда) заболеваний.

Все хронические заболевания являются многофакторными, потому что помимо генетической основы в

Таблица 1. *Гормональные изменения при старении [2]*

Гормон	Функция	Изменение с возрастом	Патология
Дегидроэпиандростерон	Предшественник половых гормонов	Снижается	Заболевания сердечно–сосудистой системы, нарушение когнитивных функций
Эстрадиол	Женский половой гормон	Снижается	Остеопороз, репродуктивная дисфункция, метаболический синдром
Тестостерон	Мужской половой гормон	Снижается	Репродуктивная дисфункция
Гормон роста	Липолиз, синтез коллагена (белка соединительной ткани), рост и регенерация тканей	Снижается	Нарушение регенерации
IGF–1	Рост и регенерация тканей	Снижается	Нарушение регенерации, старение кожи
Тироксин	Энергетический метаболизм	Снижается	Замедление метаболизма, снижение температуры тела
Мелатонин	Суточные и сезонные ритмы	Снижается	Нарушение сна
Грелин	Чувство голода	Снижается	Нарушение пищевого поведения, энергетического метаболизма.Сердечно–сосудистые заболевания, нейрологические нарушения, снижение адаптивного иммунитета
Лептин	Энергетический обмен, подавляет аппетит	Увеличивается	Возникает нечувствительность к лептину и, как следствие – метаболический синдром (ожирение, сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия)
1,25–дигидроксивитамин D3	Регуляция уровня кальция	Снижается	Остеопороз
Кальцитонин	Отложение кальция в костях, регуляция уровня кальция в крови	Снижается	Остеопороз
Клото	Регуляция уровней фосфатов	Снижается	Почечная и сердечная недостаточность, нарушение обмена фосфатов, депрессия
Альдостерон	Минеральный обмен	Снижается	Обезвоживание организма, нарушение электролитного баланса
Ренин	Сохранение воды в организме, регуляция объема циркуляции крови	Снижается	Нарушение электролитного баланса
Адипонектин	Регуляция обмена веществ, антивоспалительные свойства	Снижается	Сахарный диабет 2 типа, ожирение, атеросклероз, неалкогольная жировая болезнь печени.
Вазопрессин	Метаболизм воды, глюкозы, липидов, регулятор кровяного давления	Увеличивается	Отеки, гипертония, хроническая болезнь почек, асоциальное поведение, когнитивные нарушения
Кортизол	Углеводный обмен, стресс–реакции	Увеличивается	Остеопороз, метаболический синдром
Адреналин	Стресс–реакции	Увеличивается	Состояние хронического стресса
Норадреналин	Стресс–реакции	Увеличивается	Состояние хронического стресса
Паратиреоидный гормон	Высвобождение кальция из костей	Увеличивается	Остеопороз
Лютеинизирующий гормон	Репродуктивная функция	Увеличивается	Болезнь Альцгеймера
Холецистокинин	Пищеварение, аппетит, удовольствие	Увеличивается	Нарушение аппетита

Таблица 2. *Омиксные исследования человека [2]*

Омика	Объект исследования	Разнообразие	Методы исследования
Геном	Совокупность генов	19 000 белок–кодирующих генов	• ДНК–секвенирование • Чипы полногеномногогенотипирования
Эпигеном	Влияющие на активность генов модификации хроматина, не связанные с изменением последовательности ДНК	Метилирование ДНК, модификации гистонов, вариантные гистоны, паттерн микроРНК	• Обращенно–фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография • Капиллярный электрофорез высокого разрешения • Бисульфитное пиросеквенирование • Метил–специфический ПЦР • Чипы ДНК метилирования • Масс–спектрометрия • Иммунопреципитация хроматина (ChIP) • ChIP–Seq • ChIP–on–Chip
Транскриптом	Совокупность РНК клеток	мРНК, микроРНК	• РНК–секвенирование • Экспрессионные микрочипы • ПЦР–арреи
Протеом	Совокупность всех белков	> 1000000	• Двумерный гель–электрофорез • Жидкая хроматография и масс–спектрометрия • Капиллярный электрофорез и масс–спектрометрия • Белковые микрочипы
Метаболом	Совокупность малых молекул – метаболитов	>40 000	• Газовая хроматография и масс–спектрометрия • Жидкостная хроматография высокого разрешения • Спектроскопия ядерного магнитного резонанса
Микробиом	Совокупность микроорганизмов, обитающих на поверхности и в полостях нашего тела	>10000	• Метагеномноесеквенирование

их развитии важную роль играет образ жизни. Людям, у которых высокий генетический риск данных заболеваний, крайне важно следить за своим питанием и физической активностью, потому что своевременное вмешательство в образ жизни способно не дать риску реализоваться.

Риск возникновения многофакторного заболевания, выявленный по результатам генетического теста, обозначает лишь то, что у человека имеются такие снипы – генетические особенности, которые при проведении масштабного исследования полногеномных(то есть всего генома человека) ассоциаций значительно чаще встречались в группе людей с заболеванием, чем в контрольной группе здоровых. Таким образом, это никакой не приговор, а рекомендация уделить своему здоровью, диагностике и профилактике конкретного заболевания больше внимания.

Генотипирование помогает выявить генетическую предрасположенность к тем или иным заболеванием для того, чтобы заранее заняться его профилактикой. Часто бывает достаточно изменить образ жизни, чтобы не провоцировать заболевание. Риск, даже если он высокий – это не будущий диагноз, и это важно понимать.

Для правильного понимания выявленных рисков необходимо построить генеалогическое древо с врачом–генетиком, изучить имеющиеся медицинские документы (анализы, выписки из медицинской карты др.). Только в совокупности с данными об образе жизни, генеалогии и медицинской истории можно прогнозировать повышение или снижение тех или иных рисков.

Кроме того, по данным генетического теста выявляется индивидуальная реакция на десятки лекарственных препаратов, наследуемость личных качеств, особенности переносимости тех или иных продуктов питания (алкоголя, лактозы, глютена и т.д.).

Во–вторых, в основе анализа генетической предрасположенности лежит изучение **вариации количества**

копий (CNVs) – изменение количества копий (удвоение или выпадение) одного или нескольких участков ДНК. Самым ярким представителем заболеваний этого класса является болезнь Хантингтона. Многократное умножение повтора нуклеотидов ЦАГ в гене IT–15приводит к образованию токсичного белка хантингтина, вызывающего гибель нервных клеток и тяжелое расстройство нервной деятельности. Избыток или недостаток определенных участков ДНК на хромосомах, как теперь ясно, играет роль в возникновении различных типов опухолей, возрастной макулярной дегенерации, болезни Альцгеймера.

В качестве примера использования генетического теста для выявления вероятности долголетия, можно вспомнить о гене APOE, определенные варианты которого никогда не встречаются у долгожителей[26]. Это значит, что такие варианты предрасполагают к развитию возрастзависимых заболеваний. Вариант гена APOE, который называется e4, связан с более высоким риском развития атеросклероза и болезни Альцгеймера. Но даже наличие этого варианта – не приговор, так как на его проявление можно влиять изменением образа жизни – начиная со всем известных рекомендаций по здоровому питанию и физической активности, уменьшению употребления алкоголя и отказу от курения и заканчивая рекомендациями по употреблению продуктов питания, богатых омега–3.

Транскриптомика. Активность генов при старении сопровождается усилением хаотичности, «информационного шума». Те гены и даже бессмысленные повторяющиеся последовательности генома, которые в норме должны «молчать», активизируются, что сбивает тонкую настройку клеточного метаболизма. По–видимому, это связано со снижением точности регуляции активности генов. Такого рода изменения активности многих генов могут лежать в основе большинства возрастных заболеваний.

В проекте EuroBATs обследовали около 900 женщин–близнецов разного возраста из Великобритании[27]. У них брали образцы жировой ткани, кожи, лимфобластоидные клетки и цельную кровь. Наиболее статистически значимые изменения с возрастом отмечались в коже: 3.3% всех генов (их у нас порядка 20 000) меняло свою активность. Например, изменялся уровень мРНК генов, которые регулируют окислительно–восстановительный баланс, синтез РНК, функционирование митохондрий, метаболизм жирных кислот и холестерина. Это обнадеживающий результат, так как кожа отражает глубинные возрастные процессы, при этом являясь одним из наиболее доступных для лабораторного анализа органов. К тому же она – удобная мишень для антивозрастных терапий, эффективность которых возможно будет оценивать по вновь выявленным маркерам старения клеток кожи.

Жан–Поль де Магалхасом из Ливерпульского университета сопоставил большие массивы данных, относящихся к различным тканям человека (головному мозгу, почкам и скелетным мышцам) и обнаружил закономерные изменения в активности десятков генов[28]. Во всех тканях перечисленных органов с возрастом происходит активация генов связанных с подавлением процессов клеточного роста и упаковкой белков, генов факторов воспаления, ответа на оксидативный стресс и воздействие тяжелых металлов. Кроме того, в головном мозге активируются гены клеточной гибели. Напротив, в изученных тканях подавлены гены, связанные с выработкой АТФ в митохондриях.

Помимо изменения активности генов, кодирующих белок, с возрастом меняется уровень экспрессии определенных регуляторных микроРНК. Такие РНК не кодируют белки, а выполняют функцию регуляторов, как правило, выключая биосинтез некоторых белков, подавляя активность их генов. Как показали онкологические исследования, профили микроРНК обладают даже большей предсказательной силой, чем профили матричной РНК. Под профилем понимается определенный набор изменений в спектре молекул мРНК в данной клетке или ткани.

Эпигенетика. Изменение активности генов связано с эпигенетическими изменениями на разных уровнях — ДНК, РНК, белок (табл. 3), приводящими к выключению одних и включению других генов. Большинство этих изменений связано с попыткой ответа клеток и организма на накопление ошибок, в том числе ведущих к старению (выходу из репродуктивного цикла) или гибели клетки. Эти реакции возникли в эволюции для того, чтобы предотвратить опухолевое перерождение поврежденной клетки. Однако чрезмерный ответ на стресс (клеточное старение и гибель клеток) даже более опасен с точки зрения старения всего организма, чем вызвавшие его повреждения.

Один из ключевых механизмов выключения гена – **метилирование** его ДНК. Исследователи из группы В. Вагнера показали, что характер метилирования последовательности ДНК всего трех генов в клетках крови человека позволяет довольно точно (±5 лет) судить о биологическом возрасте, а также предсказать ускоренное старение. За последние два года было выполнено несколько десятков исследований, в которых по уровню метилирования ДНК определенных генов удалось оценить скорость старения той или иной ткани или организма в целом.

Регуляция связанных с ДНК белков – гистонов претерпевает возрастзависимые изменения, которые сказываются на уровне активности многих генов, что является важным механизмом старения. Например,

Таблица 3. *Уровни эпигенетической регуляции экспрессии генов [29]*

Уровень		Регуляторный процесс
ДНК	Геном	Метилирование ДНК, эффект положения гена, мутации отдаленных регуляторных элементов, транспозиции генетического материала
РНК	Транскриптом	Регуляторные мотивы пре–мРНК, антисмысловые РНК, нетранслирующиеся РНК, микроРНК, длинные некодирующие РНК, двухцепочечные РНК
Белок	Протеом	(Де)ацетилирование лизина, (де)метилирование лизина/аргинина, фосфорилированиесерина/треонина, моноубиквитинилирование лизина, *ADP*–рибозилирование, сумоилирование белков,инкорпорирование в хроматин вариантных гистонов (*macroH2*A) и негистоновых белков (*HP1, PML, HMGA1*)

систематическое кислородное голодание тканей и хроническое воспаление через различные механизмы приводит к активации фермента, снимающего метильную метку с гистоновых белков. Изменение уровня метилирования гистонов связано с активацией гена циклинзависимойкиназы p16, останавливающей репродукцию клетки. Экспрессия p16 является характерным биомаркером клеточного старения. Кроме того, деметилирование определенных гистонов приводит к образованию обширных участков выключенного, неактивного генома. Благодаря плотности упаковки ДНК такие участки можно прокрасить и наблюдать в люминесцентный микроскоп. Они дают нам еще один биомаркер старения клетки. Напротив, с репликативным возрастом клетки происходит утрата гетерохроматина по периферии ядра, который играл важную роль в пространственной упаковке хромосом в ядре и в прикреплении хромосом к ядерной оболочке. Повреждение ДНК клетки, нередко сопровождающее старение, вызывает фосфорилирование одного из гистоновых белков (*H2AX*), который запускает каскад процессов, заканчивающихся наработкой в клетке еще одного ингибитора циклин зависимых киназ, p21 и остановке цикла деления клетки.

Метаболомика. Гены, кодируют белки–ферменты, исполняющие роль посредников и катализаторов различных метаболических процессов в организме, таких как клеточное дыхание, биосинтез других белков, липидов, углеводов, малых органических молекул.

Метаболомика, согласно Д. Промыслову, имеет ряд преимуществ над другими «омиками». Метаболом весьма чувствителен и предсказуем по отношению к физиологическому состоянию организма. Старение и вмешательства, которые влияют на старение (например, диета), заметно изменяют структуру метаболомной сети. Метаболомный подход является весьма удобным для клинического применения.

Магнитный резонанс (МР) стал главным рабочим инструментом при изучении метаболитов в плазме и сыворотке крови, в образцах мочи. МР профиль отображает набор резонансов, вызываемых большинством молекул с низкой молекулярной массой, таких как кетоновые тела, органические кислоты, короткоцепочечные жирные кислоты, аминокислоты, фенолы, индолы, ксенобиотики, осмолиты, желчные кислоты. Еще более мощным высокопроизводительным методом метаболомики является *Orbitrap* масс–спектрометрия.

В плазме крови человека постоянно циркулирует несколько сотен метаболитов. Поскольку кровь омывает все органы, ее состояние может быть интегральным показателем здоровья и скорости старения тела(табл. 4). Одновременное повышение в плазме крови уровня метаболитов изоцитрата и таурохолатаи некоторых других может свидетельствовать о более низких шансах дожить до 80 лет[29]. Избыток циркулирующего изоцитрата к тому же свидетельствует об увеличении риска сердечно–сосудистых заболеваний. При старении в крови существенно повышается соотношение меди и цинка. Возрастают гомоцистеин и мочевая кислота, которые являются воспалительными маркерами, связанными с сердечно–сосудистыми заболеваниями и гипертонией.

Совокупность жиров (называемая «**липидо́м**») давно привлекает внимание в связи с возрастом и долголетием. Относительно давно установлено, что при старении в некоторых случаях в крови увеличивается концентрация общего холестерина и свободных жирных кислот.

Протеомика. Протеомика циркулирующих в крови белков также представляет большой интерес. Среди белков плазмы крови много потенциальных биомаркеров скорости старения (табл. 5).

Липиды транспортируются в крови в комплексе с особыми белками–переносчиками. С точки зрения долголетия важно преобладание липопротеинов высокой плотности над липопротеинами низкой плотности и отсутствие избытков еще одного липида –холестерина. Повреждение глюкозой (гликирование) белка *ApoB100* в составе липопротеинов низкой плотности ведет к потере его способности взаимодействовать с тканевыми рецепторами, обеспечивающими доставку жиров в клетки тела. Поврежденный *ApoB100* начинает восприниматься организмом как чужеродный, вызывающий иммунный ответ. Липопротеины низкой плотности из–за меньших размеров легче проникают в стенку сосуда, где благодаря измененному *ApoB100* атакуются иммунными клетками (макрофагами) и фагоцитируются (поглощаются и разрушаются ими). Макрофаги, скопившие много холестерина, превращаются в пенистые клетки, которые погибают, в результате чего кристаллы холестерина откладываются внутри стенки сосудов. Просвет сосуда сужается, он становится более хрупким, и кровоснабжение органов и тканей ухудшается.

Неферментативное гликозилирование (**гликирование**) является распространенным механизмом повреждения белков в живом организме. Оно происходит в результате химической реакции (реакции Майяра) между глюкозой и аминогруппами в составе белков.Те же самые процессы, только в ускоренном темпе, происходят при образовании золотистой корочки при поджаривании мяса. Очень медленно стенки наших сосудов «поджариваются», разнося по тканям теплую кровь, насыщенную глюкозой и другими сахарами. В процессе старения происходит заметное накопление долгоживущих белков, подвергшихся гликированию, таких как коллагены, эластин (в стенке сосудов) и хрящевые белки (в суставах). Гликированные белки склонны к перекрестным сшивкам

Таблица 4. *Уровень метаболитов крови, характеризующий 80–летних [29]*

Повышен	Понижен
Гистидин	Котинин (метаболит никотина)
Лизин	Аконитат
Треонин	Бета–гидроксибутират
Уридин	Изоцитрат
Лизофосфатидилхолин 22:6	Малат
Фосфатидилхолин 38:6	Таурохолат

Таблица 5. *Протеомные маркеры ускоренного старения в плазме крови [2]*

Маркер	Возрастзависимое изменение	Патология
b2–микроглобулин	увеличение	Снижение когнитивных способностей, регенерации в зоне памяти мозга – гиппокампе
Bmp11	увеличение	Деменция, заболевания сердца
N–гликозилированный иммуноглобулин IgG (*FA2B*, *FA2G2, FA2BG2*)	увеличение	Воспаление
АполипопротеинJ/кластерин	увеличение	Сахарный диабет 2 типа, ишемическая болезнь сердца
Фибриноген	увеличение	Тромбофлебит
Альбумин	снижение	Ухудшение транспортной функции крови
Трансферрин	снижение	Анемия, нарушение иммунитета, повышение уровня гибели клеток печени

с образованием так называемых «**конечных продуктов гликирования**» (КПГ). Перекрестные сшивки между белками стенки сосуда снижают его эластичность и изменяют проницаемость сосуда для метаболитов. КПГ к тому же взаимодействуют с особыми рецепторами на поверхности клеток, вызывая воспалительные реакции. КПГ участвуют в возникновении многочисленных возрастных заболеваний, например, нейродегенеративных, сердечно–сосудистых и почечных. Конечные продукты гликирования можно измерить в плазме крови или даже на поверхности кожи с помощью флуоресцентной спектроскопии.Кроме того, применяют иммунологический анализ на карбоксиметиллизин, пентозидин, аргпиримидин, имидазолон. Уровень гликирования белков может быть оценен по количеству гликированного гемоглобина (*HbA1c*). Существенное превышение нормы по данному показателю может быть следствием развития сахарного диабета. Настольный прибор *AGE Reader* измеряет накопление в ткани КПГ с помощью флуоресцентных методов – измерения аутофлюоресценции кожи в определенном диапазоне длин волн.

N–гликозилирование – это присоединение молекулы разветвленной цепочки сахаров (гликана) к белку с помощью специализированных ферментов, приводящее к образованию гликопротеина, состоящего из углевода и белка. Эта модификация позволяет иммунным белкам участвовать в распознавании «свой–чужой». Не следует путать *N*–гликозилированиес гликированием – спонтанным взаимодействием сахара и какого–либо белка, в результате которого белок повреждается и его функция теряется. При старении меняется спектр сахарных цепочек, присоединенных к белкам при *N*–гликозилировании. Это изменение является одной из причин хронических воспалительных процессов.Уровень гликозилированных антител IgG в крови коррелирует с возрастом человека даже в большей степени, чем укорочение теломер, и может эффективно применяться для расчета биологического возраста человека[31].

На основании данных европейского исследования биомаркеров старения *MARK–AGE* (2008–2013 гг.) разработан тест на биологический возраст *GlycoAgeTest*, учитывающий логарифм соотношения количеств определенных гликанов – NGA2F, уровень которых с возрастом увеличивается, и *NA2F*, которых с возрастом становится все меньше[30]. Чем больше значение критерия *GlycoAgeTest*, тем старше человек с биологической точки зрения.

Еще один гликопротеин, количество которого зависит от возраста – аполипопротеин*J* (кластерин). Пространственная укладка полипептидной цепочки любого белка играет определяющую роль в выполнении им своей функции. Кластерин помогает другим белкам сохранить правильную укладку, стабилизирует ее, что делает его ценным биомаркером старения. Он повышен у пациентов с сахарным диабетом типа 2 ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда. Его уровень можно измерять в сыворотке крови[32].

При старении постмитотических тканей(скелетная мускулатура, сердечная мышца, головной мозг) в больших количествах накапливаются **агрегаты окисленных белков**. Окисление белковой молекулы приводит к утрате поверхностного заряда и растворимости белка в воде. Нерастворимые белки начинают образовывать фибриллы и бляшки, так называемый амилоид. Наиболее известными формами старческого амилоидоза является болезнь Альцгеймера, амилоидоз сердца и почек. Увеличение доли окисленных белков при старении связано с накоплением дефектных митохондрий, в избытке выделяющих свободные радикалы, с подавлением процессов репарации и деградации поврежденных белков. Поэтому показателями скорости старения являются как снижение активности механизмов деградации – аутофагии (внутриклеточного переваривания поврежденных структур) и протеасомы (расщепления ненужных белков до аминокислот), так и репарации окисленных белков через систему метионин сульфоксидредуктазы. Данные изменения в качестве биомаркеров старения удобно наблюдать в мононуклеарных клетках периферической крови.

Короткие белки (пептиды) в моче, например, фрагменты коллагена–1 типа Iи III,служат отличными маркерами, как старения, так и хронической болезни почек и ишемической болезни сердца[33].

В последние годы появились данные, что структура и количественное содержание филотипов пристеночной кишечной микробиоты также может рассматриваться, как дополнительный, достаточно четкий, воспроизводимый возраст – ассоциированный микроэкологический маркер старения.

Таким образом, накопленные в последнее время данные, позволяют с большой долей точности судить о скорости старения пациента и в индивидуальном порядке мониторировать эффективность терапий, направленных на замедление старения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Москалев А.А. 120 лет – это только начало. Как победить старение? М.: ЭКСМО, 2014. 320 с.
2. Москалев А.А. Как победить свой возраст? 8 уникальных способов, которые помогут достичь долголетия. М.: ЭКСМО, 2016. 265 с.
3. Фоменко А., Баранова А., Митницкий А., Жикривецкая С., Москалев А.А. Биомаркеры старения человека. 2016. СП–б: Европейский дом. 264 с.
4. Дильман В.М. Четыре модели медицины, 1987. 288 с.
5. Butler RN, Sprott R, Warner H, Bland J, Feuers R, Forster M, Fillit H, Harman SM, Hewitt M, Hyman M, Johnson K, Kligman E, McClearn G, Nelson J, Richardson A, Sonntag W, Weindruch R, Wolf N. Biomarkers of aging: from primitive organisms to humans. J Gerontol A BiolSci Med Sci. 2004 Jun;59(6):B560–7.
6. Velegzhaninov I, Mezenceva V, Shostal O, Baranova A, Moskalev A. Age dynamics of DNA damage and Cpg methylation in the peripheral blood leukocytes of mice // Mutation Research (Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis), 2015. V. 775. P. 38–42.
7. Moskalev AA, Shaposhnikov MV, Plyusnina EN, Zhavoronkov A, Budovsky A, Yanai H, Fraifeld VE. The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch–like criteria. Ageing Res Rev, 2013. Vol. 12. N2. P. 661–684.
8. Müezzinler A, Zaineddin AK, Brenner H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. Ageing Res Rev. 2013 Mar;12(2):509–19.
9. Blackburn EH, Epel ES, Lin J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. Science. 2015 Dec 4;350(6265):1193–8.
10. Epel ES, Lin J, Wilhelm FH, Wolkowitz OM, Cawthon R, Adler NE, Dolbier C, Mendes WB, Blackburn EH. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors. Psychoneuroendocrinology. 2006 Apr;31(3):277–87.
11. Jiang H, Schiffer E, Song Z, Wang J, Zürbig P, Thedieck K, Moes S, Bantel H, Saal N, Jantos J, Brecht M, Jenö P, Hall MN, Hager K, Manns MP, Hecker H, Ganser A, Döhner K, Bartke A, Meissner C, Mischak H, Ju Z, Rudolph KL. Proteins induced by telomere dysfunction and DNA damage represent biomarkers of human aging and disease. Proc Natl AcadSci U S A. 2008 Aug 12;105(32):11299–304.
12. Liu Y, Sanoff HK, Cho H, Burd CE, Torrice C, Ibrahim JG, Thomas NE, Sharpless NE. Expression of p16(INK4a) in peripheral blood T–cells is a biomarker of human aging. Aging Cell. 2009 Aug;8(4):439–48.
13. Scaffidi P, Misteli T. Lamin A–dependent nuclear defects in human aging. Science. 2006 May 19; 312(5776):1059–63.
14. Ashar FN, Moes A, Moore AZ, Grove ML, Chaves PH, Coresh J, Newman AB, Matteini AM, Bandeen–Roche K, Boerwinkle E, Walston JD, Arking DE. Association of mitochondrial DNA levels with frailty and all–cause mortality. J Mol Med (Berl). 2015 Feb;93(2):177–86.
15. Pinti M, Cevenini E, Nasi M, De Biasi S, Salvioli S, Monti D, Benatti S, Gibellini L, Cotichini R, Stazi MA, Trenti T, Franceschi C, Cossarizza A. Circulating mitochondrial DNA increases with age and is a familiar trait: Implications for "inflamm–aging". Eur J Immunol. 2014 May;44(5):1552–62.
16. Lee BY, Han JA, Im JS, Morrone A, Johung K, Goodwin EC, Kleijer WJ, DiMaio D, Hwang ES. Senescence–associated beta–galactosidase is lysosomal beta–galactosidase. Aging Cell. 2006 Apr;5(2):187–95.
17. Feng FK, E LL, Kong XP, Wang DS, Liu HC. Lipofuscin in saliva and plasma and its association with age in healthy adults. Aging ClinExp Res. 2015 Oct;27(5):573–80.
18. Collado M, Serrano M. The power and the promise of oncogene–induced senescence markers. Nat Rev Cancer. 2006 Jun;6(6):472–6.
19. Moro–García M.A., Alonso–Arias R., López–Larrea C. When Aging Reaches CD4+ T–Cells: Phenotypic and Functional Changes. Front Immunol. 2013; 4: 107.
20. Villeda SA, Luo J, Mosher KI, Zou B, Britschgi M, Bieri G, Stan TM, Fainberg N, Ding Z, Eggel A, Lucin KM, Czirr E, Park JS, Couillard–Després S, Aigner L, Li G, Peskind ER, Kaye JA, Quinn JF, Galasko DR, Xie XS, Rando TA, Wyss–Coray T. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. Nature. 2011 Aug 31;477(7362):90–4.
21. Nair NP, Hariharasubramanian N, Pilapil C, Isaac I, Thavundayil JX. Plasma melatonin––an index of brain aging in humans? Biol Psychiatry. 1986 Feb;21(2):141–50.
22. Sharman KG, Sharman EH, Yang E, Bondy SC. Dietary melatonin selectively reverses age–related changes in cortical cytokine mRNA levels, and their responses to an inflammatory stimulus. Neurobiol Aging. 2002 Jul–Aug;23(4):633–8.
23. Corpas E, Harman SM, Blackman MR. Human growth hormone and human aging. Endocr Rev. 1993 Feb;14(1):20–39.
24. Tiryakioğlu O, Kadiolgu P, Canerolgu NU, Hatemi H. Age dependency of serum insulin – like growth factor (IGF)–1 in healthy Turkish adolescents and adults. Indian J Med Sci. 2003 Dec;57(12):543–8.
25. Almeida DM, Piazza JR, Stawski RS. Interindividual differences and intraindividual variability in the cortisol awakening response: an examination of age and gender. Psychol Aging. 2009 Dec;24(4):819–27.
26. Sebastiani P, Solovieff N, Dewan AT, Walsh KM, Puca A, Hartley SW, Melista E, Andersen S, Dworkis DA, Wilk JB, Myers RH, Steinberg MH, Montano M, Baldwin CT, Hoh J, Perls TT. Genetic signatures of exceptional longevity in humans. PLoS One. 2012;7(1):e29848.
27. Glass D, Viñuela A, Davies MN, Ramasamy A, Parts L, Knowles D, Brown AA, Hedman AK, Small KS, Buil A, Grundberg E, Nica AC, Di Meglio P, Nestle FO, Ryten M; UK Brain Expression consortium; MuTHER consortium, Durbin R, McCarthy MI, Deloukas P, Dermitzakis ET, Weale ME, Bataille V, Spector TD. Gene expression changes with age in skin, adipose tissue, blood and brain. Genome Biol. 2013 Jul 26;14(7):R75.
28. deMagalhães JP, Curado J, Church GM. Meta–analysis of age–related gene expression profiles identifies common signatures of aging. Bioinformatics. 2009 Apr 1;25(7):875–81.
29. Cheng S, Larson MG, McCabe EL, Murabito JM, Rhee EP, Ho JE, Jacques PF, Ghorbani A, Magnusson M, Souza AL, Deik AA, Pierce KA, Bullock K, O'Donnell CJ, Melander O, Clish CB, Vasan RS, Gerszten RE, Wang TJ. Distinct metabolomic signatures are associated with longevity in humans. Nat Commun. 2015 Apr 13;6:6791.
30. Catera M, Borelli V, Malagolini N, Chiricolo M, Venturi G, Reis CA, Osorio H, Abruzzo PM, Capri M, Monti D, Ostan R, Franceschi C, Dall'Olio F. Identification of novel plasma glycosylation–associated markers of aging. Oncotarget. 2016 Feb 16;7(7):7455–68.
31. Krištić J, Vučković F, Menni C, Klarić L, Keser T, Beceheli I, Pučić–Baković M, Novokmet M, Mangino M, Thaqi K, Rudan P, Novokmet N, Sarac J, Missoni S, Kolčić I, Polašek O, Rudan I, Campbell H, Hayward C, Aulchenko Y, Valdes A, Wilson JF, Gornik O, Primorac D, Zoldoš V, Spector T, Lauc G. Glycans are a novel biomarker of chronological and biological ages. J Gerontol A BiolSci Med Sci. 2014 Jul;69(7):779–89.
32. Bürkle A, Moreno–Villanueva M, Bernhard J, Blasco M, Zondag G, Hoeijmakers JH, Toussaint O, Grubeck–Loebenstein B, Mocchegiani E, Collino S, Gonos ES, Sikora E, Gradinaru D, Dollé M, Salmon M, Kristensen P, Griffiths HR, Libert C, Grune T, Breusing N, Simm A, Franceschi C, Capri M, Talbot D, Caiafa P, Friguet B, Slagboom PE, Hervonen A, Hurme M, Aspinall R. MARK–AGE biomarkers of ageing. Mech Ageing Dev. 2015 Nov;151:2–12.
33. Zürbig P, Decramer S, Dakna M, Jantos J, Good DM, Coon JJ, Bandin F, Mischak H, Bascands JL, Schanstra JP. The human urinary proteome reveals high similarity between kidney aging and chronic kidney disease. Proteomics. 2009 Apr;9(8):2108–17.
34. Безродный СЛ, Шендеров БА. Кишечнаямикробиота как источник новых биомаркеров старения. Вестник восстановительной медицины 2015; №2: 40–47.

REFERENCES:

1. Moskalev A.A. 120 years – is only the beginning. How to beat the aging? M .: Eksmo, 2014. 320 p.
2. Moskalev A.A. How to win your age? 8 unique ways to help achieve longevity. M .: Eksmo, 2016. 265 p.
3. FomenkoA., Baranova A., Mitnitsky A. Zhikrivetskaya S.,Moskalev A. Biomarkers of human aging. 2016 SP–B: European House. 264 p.
4. DilmanV.M.Four model Medicine, 1987. 288 p.
5. Butler RN, Sprott R, Warner H, Bland J, Feuers R, Forster M, Fillit H, Harman SM, Hewitt M, Hyman M, Johnson K, Kligman E, McClearn G, Nelson J, Richardson A, Sonntag W, Weindruch R, Wolf N. Biomarkers of aging: from primitive organisms to humans. J Gerontol A BiolSci Med Sci. 2004 Jun;59(6):B560–7.
6. Velegzhaninov I, Mezenceva V, Shostal O, Baranova A, Moskalev A. Age dynamics of DNA damage and Cpg methylation in the peripheral blood leukocytes of mice // Mutation Research (Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis), 2015. V. 775. P. 38–42.
7. Moskalev AA, Shaposhnikov MV, Plyusnina EN, Zhavoronkov A, Budovsky A, Yanai H, Fraifeld VE. The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch–like criteria. Ageing Res Rev, 2013. Vol. 12. N2. P. 661–684.
8. Müezzinler A, Zaineddin AK, Brenner H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. Ageing Res Rev. 2013 Mar;12(2):509–19.
9. Blackburn EH, Epel ES, Lin J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. Science. 2015 Dec 4;350(6265):1193–8.
10. Epel ES, Lin J, Wilhelm FH, Wolkowitz OM, Cawthon R, Adler NE, Dolbier C, Mendes WB, Blackburn EH. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors. Psychoneuroendocrinology. 2006 Apr;31(3):277–87.

11. Jiang H, Schiffer E, Song Z, Wang J, Zürbig P, Thedieck K, Moes S, Bantel H, Saal N, Jantos J, Brecht M, Jenö P, Hall MN, Hager K, Manns MP, Hecker H, Ganser A, Döhner K, Bartke A, Meissner C, Mischak H, Ju Z, Rudolph KL. Proteins induced by telomere dysfunction and DNA damage represent biomarkers of human aging and disease. Proc Natl AcadSci U S A. 2008 Aug 12;105(32):11299–304.
12. Liu Y, Sanoff HK, Cho H, Burd CE, Torrice C, Ibrahim JG, Thomas NE, Sharpless NE. Expression of p16(INK4a) in peripheral blood T–cells is a biomarker of human aging. Aging Cell. 2009 Aug;8(4):439–48.
13. Scaffidi P, Misteli T. Lamin A–dependent nuclear defects in human aging. Science. 2006 May 19; 312(5776):1059–63.
14. Ashar FN, Moes A, Moore AZ, Grove ML, Chaves PH, Coresh J, Newman AB, Matteini AM, Bandeen–Roche K, Boerwinkle E, Walston JD, Arking DE. Association of mitochondrial DNA levels with frailty and all–cause mortality. J Mol Med (Berl). 2015 Feb;93(2):177–86.
15. Pinti M, Cevenini E, Nasi M, De Biasi S, Salvioli S, Monti D, Benatti S, Gibellini L, Cotichini R, Stazi MA, Trenti T, Franceschi C, Cossarizza A. Circulating mitochondrial DNA increases with age and is a familiar trait: Implications for "inflamm–aging". Eur J Immunol. 2014 May;44(5):1552–62.
16. Lee BY, Han JA, Im JS, Morrone A, Johung K, Goodwin EC, Kleijer WJ, DiMaio D, Hwang ES. Senescence–associated beta–galactosidase is lysosomal beta–galactosidase. Aging Cell. 2006 Apr;5(2):187–95.
17. Feng FK, E LL, Kong XP, Wang DS, Liu HC. Lipofuscin in saliva and plasma and its association with age in healthy adults. Aging ClinExp Res. 2015 Oct;27(5):573–80.
18. Collado M, Serrano M. The power and the promise of oncogene–induced senescence markers. Nat Rev Cancer. 2006 Jun;6(6):472–6.
19. Moro–García M.A., Alonso–Arias R., López–Larrea C. When Aging Reaches CD4+ T–Cells: Phenotypic and Functional Changes. Front Immunol. 2013; 4: 107.
20. Villeda SA, Luo J, Mosher KI, Zou B, Britschgi M, Bieri G, Stan TM, Fainberg N, Ding Z, Eggel A, Lucin KM, Czirr E, Park JS, Couillard–Després S, Aigner L, Li G, Peskind ER, Kaye JA, Quinn JF, Galasko DR, Xie XS, Rando TA, Wyss–Coray T. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. Nature. 2011 Aug 31;477(7362):90–4.
21. Nair NP, Hariharasubramanian N, Pilapil C, Isaac I, Thavundayil JX. Plasma melatonin––an index of brain aging in humans? Biol Psychiatry. 1986 Feb;21(2):141–50.
22. Sharman KG, Sharman EH, Yang E, Bondy SC. Dietary melatonin selectively reverses age–related changes in cortical cytokine mRNA levels, and their responses to an inflammatory stimulus. Neurobiol Aging. 2002 Jul–Aug;23(4):633–8.
23. Corpas E, Harman SM, Blackman MR. Human growth hormone and human aging. Endocr Rev. 1993 Feb;14(1):20–39.
24. Tiryakioğlu O, Kadiolgu P, Canerolgu NU, Hatemi H. Age dependency of serum insulin – like growth factor (IGF)–1 in healthy Turkish adolescents and adults. Indian J Med Sci. 2003 Dec;57(12):543–8.
25. Almeida DM, Piazza JR, Stawski RS. Interindividual differences and intraindividual variability in the cortisol awakening response: an examination of age and gender. Psychol Aging. 2009 Dec;24(4):819–27.
26. Sebastiani P, Solovieff N, Dewan AT, Walsh KM, Puca A, Hartley SW, Melista E, Andersen S, Dworkis DA, Wilk JB, Myers RH, Steinberg MH, Montano M, Baldwin CT, Hoh J, Perls TT. Genetic signatures of exceptional longevity in humans. PLoS One. 2012;7(1):e29848.
27. Glass D, Viñuela A, Davies MN, Ramasamy A, Parts L, Knowles D, Brown AA, Hedman AK, Small KS, Buil A, Grundberg E, Nica AC, Di Meglio P, Nestle FO, Ryten M; UK Brain Expression consortium; MuTHER consortium, Durbin R, McCarthy MI, Deloukas P, Dermitzakis ET, Weale ME, Bataille V, Spector TD. Gene expression changes with age in skin, adipose tissue, blood and brain. Genome Biol. 2013 Jul 26;14(7):R75.
28. deMagalhães JP, Curado J, Church GM. Meta–analysis of age–related gene expression profiles identifies common signatures of aging. Bioinformatics. 2009 Apr 1;25(7):875–81.
29. Cheng S, Larson MG, McCabe EL, Murabito JM, Rhee EP, Ho JE, Jacques PF, Ghorbani A, Magnusson M, Souza AL, Deik AA, Pierce KA, Bullock K, O'Donnell CJ, Melander O, Clish CB, Vasan RS, Gerszten RE, Wang TJ. Distinct metabolomic signatures are associated with longevity in humans. Nat Commun. 2015 Apr 13;6:6791.
30. Catera M, Borelli V, Malagolini N, Chiricolo M, Venturi G, Reis CA, Osorio H, Abruzzo PM, Capri M, Monti D, Ostan R, Franceschi C, Dall'Olio F. Identification of novel plasma glycosylation–associated markers of aging. Oncotarget. 2016 Feb 16;7(7):7455–68.
31. Krištić J, Vučković F, Menni C, Klarić L, Keser T, Beceheli I, Pučić–Baković M, Novokmet M, Mangino M, Thaqi K, Rudan P, Novokmet N, Sarac J, Missoni S, Kolčić I, Polašek O, Rudan I, Campbell H, Hayward C, Aulchenko Y, Valdes A, Wilson JF, Gornik O, Primorac D, Zoldoš V, Spector T, Lauc G. Glycans are a novel biomarker of chronological and biological ages. J Gerontol A BiolSci Med Sci. 2014 Jul;69(7):779–89.
32. Bürkle A, Moreno–Villanueva M, Bernhard J, Blasco M, Zondag G, Hoeijmakers JH, Toussaint O, Grubeck–Loebenstein B, Mocchegiani E, Collino S, Gonos ES, Sikora E, Gradinaru D, Dollé M, Salmon M, Kristensen P, Griffiths HR, Libert C, Grune T, Breusing N, Simm A, Franceschi C, Capri M, Talbot D, Caiafa P, Friguet B, Slagboom PE, Hervonen A, Hurme M, Aspinall R. MARK–AGE biomarkers of ageing. Mech Ageing Dev. 2015 Nov;151:2–12.
33. Zürbig P, Decramer S, Dakna M, Jantos J, Good DM, Coon JJ, Bandin F, Mischak H, Bascands JL, Schanstra JP. The human urinary proteome reveals high similarity between kidney aging and chronic kidney disease. Proteomics. 2009 Apr;9(8):2108–17.
34. Bezrodny SL, Shenderov BA. Intestinal microbiota as a source of novel biomarkers of ageing. Journal of restorative medicine & rehabilitation 2015; N2: 40–47.

РЕЗЮМЕ

Биомаркеры старения – это измеряемые параметры, которые воспроизводимо качественно и количественно изменяются при старении человека. Многие возраст–зависимые патологии развиваются длительное время в неявной форме. Чем раньше диагностика и лечение – тем вероятнее успех. Биомаркеры позволят оценить эффективность лечения, не дожидаясь измерения продолжительности жизни. Таким образом, диагностические биомаркеры старения имеют большой потенциал для ранней диагностики и прогноза развития хронических возраст–зависимых заболеваний, а также наблюдения за эффективностью их профилактики и лечения. В статье рассмотрены теория–ориентированные и омиксные биомаркеры старения. Процессы старения можно условно разделить на молекулярные, клеточные и системные (эндокринные и иммунные). В каждой из этих групп насчитывается несколько гипотез старения (например, генетическая, теломерная, свободнорадикальная, репликативного старения, старения иммунных клеток и другие),опираясь на которые можно анализировать скорость старения организма. В связи с удешевлением современных высокопроизводительных методов изучения биологических молекул, многообещающим подходом стал анализ профилей ДНК, РНК, белков и метаболитов ("омиксный подход").

Ключевые слова: биомаркеры старения, транскриптом, эпигеном, протеом, метаболом.

ABSTRACT

Biomarkers of aging – measurable parameters that reproducibly qualitative and quantitative changes with aging.Many age–related pathologies are developing for a long time in a hidden form. The earlier the diagnosis and treatment – the more likely success. Biomarkers will evaluate the effectiveness of treatment, without waiting for the measurement of life span. Thus, the diagnostic biomarkers of aging have a great potential for early diagnosis and prognosis of chronic age–related diseases, as well as monitoring the effectiveness of prevention and treatment. The article describes the theory–oriented and omics biomarkers of aging. The aging process can be divided into the molecular, cellular and systemic (endocrine and immune). In each of these groups, there are several hypotheses of aging(for example,genetic, telomeric, free radical, replicative aging, immunosenescence, etc) based on which we can analyze the aging rate In connection with the reduction in the cost of modern high–performance methods for the study of biological molecules, a promising approach is the analysis of profiles of DNA, RNA, proteins and metabolites ("omics approach").

Keywords: aging biomarkers, transcriptome, epigenome, proteome, metabolome.

Контакты:

Москалев А.А. E–mail: a.moskalev@glmed.ch